Über die
Atmung der Tubificiden

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Philosophischen Fakultät

der Universität Marburg

vorgelegt von

Kurt Dausend

aus Ronsdorf

Marburg 1931

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin

Als Dissertation angenommen am 15. Februar 1931
Berichterstatter: Herr Professor Dr. F. Alverdes
Tag der mündlichen Prüfung: 25. Februar 1931
Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Sonderabdruck aus
„Zeitschrift für Vergleichende Physiologie“
Band 14, Heft 3

Inhalt.

Seite

A. Einleitung 557
B. Der Stoffwechsel der Tubificiden bei variierten Sauerstoffspannungen . 561
I. Der oxybiotische Stoffwechsel 561
1. Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauchs vom Sauerstoffdruck; Bedeutung des Hämoglobins 561
2. Abhängigkeit der Kohlendioxydproduktion vom Sauerstoffdruck 575
3. Der respiratorische Quotient bei verschiedenen Sauerstoffspannungen 582
II. Der anoxybiotische Stoffwechsel 585
1. Die anoxybiotische Lebensdauer 587
2. Die Abhängigkeit des Glykogenverbrauchs vom Sauerstoffdruck; Gesamtbild der energetischen Prozesse 590
3. Das Wesen des anoxybiotischen Prozesses. Glykogenrestitution in der Erholung nach Anoxybiose 596
C. Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Atmungsregulation bei den Tubificiden 599
D. Zusammenfassung 606
E. Literatur 607

A. Einleitung.

Der respiratorische Stoffwechsel der Wirbellosen ist nur recht wenig geklärt. Seit BUNGE (1883, 1888, 1890) wissen wir, daß ein wesentlicher Unterschied zwischen Wirbeltieren und manchen Wirbellosen darin besteht, daß letztere in weitaus höherem Maße die Fähigkeit haben, ohne elementaren Sauerstoff, also anoxybiotisch zu leben. Das Wesen dieser anoxybiotischen Vorgänge ist später eingehend von WEINLAND (1901) und LESSER (1908—1910) untersucht worden, aber es sind dabei immer nur Teilprozesse herausgegriffen worden, ohne daß der gesamte Atmungsprozeß einer Tierart jemals im Zusammenhang einer näheren Untersuchung unterzogen worden wäre; selbst diese Teilprozesse, wie z. B. auch der erwähnte anoxybiotische, sind nur unvollkommen geklärt und

bilden noch heute das Streitobjekt der verschiedenen Autoren. Besser ist das Wesen der oxydativen Umsetzungen analysiert worden; wenigstens liegen über den Sauerstoffverbrauch und seine Abhängigkeit vom Sauerstoffdruck mehrere Untersuchungen vor, und es scheint, als ob die verschiedenartigen Resultate eine weitgehende und befriedigende Erklärung insbesondere durch Krogh (1916) erfahren hätten. (Näheres vergleiche S. 562.)

Wichtig zur Beurteilung der Atmungsvorgänge wasserbewohnender Tiere ist die Einschätzung des Wassers als respiratorisches Milieu. Der Gehalt des Wassers an elementarem Sauerstoff beträgt bei Sättigung mit Luft nur etwa 0,7%, ist also bedeutend niedriger als der der Luft (21%). Aber es wäre ein Irrtum zu glauben, daß deshalb das Wasser ein schlechteres respiratorisches Milieu als die Luft wäre; nicht der prozentuale Gehalt an Sauerstoff ist ausschlaggebend, sondern der Sauerstoffdruck, und der stimmt in Luft und Wasser, sofern sich dasselbe mit der Luft im Gleichgewicht befindet, überein. — Aber der Sauerstoffgehalt des Wassers erschöpft sich viel leichter als der der Luft, da der prozentuale Sauerstoffgehalt bedeutend niedriger ist. Es ist deshalb leicht möglich, daß die Diffusion des Sauerstoffs aus der Luft ins Wasser langsamer vonstatten geht als der Sauerstoffverbrauch durch die tierischen Organismen und den organischen Detritus. Es wird dann also ein Unterdruck des Sauerstoffs im Wasser gegenüber dem der Luft entstehen, und man wird leicht einsehen, daß ein solcher Unterdruck in vielen Fällen in mehr oder minder großem Ausmaße die Norm sein wird. Die Atmung der Wassertiere, insbesondere der Süßwassertiere, muß also in weitaus höherem Maße, als es bei Landtieren nötig ist, die normalerweise stets unter hohem Sauerstoffdruck leben, an diesen Wechsel in der Sauerstoffspannung angepaßt sein. Nicht selten fehlt, wie Juday (1909) und Thienemann (1920) bei der Untersuchung verschiedener Binnenseen gezeigt haben, in den unteren Wasserschichten zeitweise jeglicher elementare Sauerstoff, und auch unter solchen extremen Verhältnissen müssen zahlreiche Organismen, zumindest für einige Zeit, existenzfähig sein.

Weiterhin ist natürlich der Bau der respiratorischen Organe von wesentlicher Bedeutung für den Atmungsprozeß. Offensichtlich würde eine große atmende Oberfläche, eine stetige Erneuerung des Atemwassers und eine große Durchlässigkeit der Haut die Atmung erleichtern, aber gerade bei Tieren, die oft unter Sauerstoffmangel zu leiden haben, finden wir häufig keine spezifischen atmenden Oberflächen und oft eine relativ undurchlässige Haut (z. B. bei vielen *Nematoden*), beides Faktoren, die recht nachteilig wirken müssen. Andererseits sind gerade bei solchen Tieren respiratorische Farbstoffe wie das Hämoglobin weit verbreitet; man hat daher die Vermutung ausgesprochen (Winterstein 1921,

v. Buddenbrock 1928), daß das Hämoglobin das Leben dieser Tiere im sauerstoffarmen Milieu erst ermöglicht. In der Tat konnte dies auch für einzelne Tierformen schon festgestellt werden (z. B. für *Chironomus*-Larven durch Leitch 1916).

Aus diesen Betrachtungen ergibt sich folgende Problemstellung: Es ist zu untersuchen, wie die Energielieferung derartiger Tiere trotz ihrer unvollkommenen Atemmechanismen und der schlechten Atembedingungen, denen sie oft ausgesetzt sind, funktioniert, wann anoxydative Spaltungen auftreten, und welche Bedeutung den letzteren in energetischer Hinsicht zukommt, endlich inwieweit das Hämoglobin fördernd in den Atmungsprozeß eingreift.

Als Versuchstiere wurden *Tubificiden*, also limicole *Oligochäten*, benutzt. Diese Würmer leben, in großen Mengen vergesellschaftet, im Schlamm der Teiche und Flüsse und sind oft bei recht schlechten Sauerstoffbedingungen anzutreffen. Das Nahrungssubstrat dieser Tiere bildet der organische Detritus, der sich am Grunde der Seen und an den Rändern der Bäche und Flüsse ablagert. Da dieser Detritus bei seiner Zersetzung dauernd Sauerstoff verbraucht, ist es leicht erklärlich, daß sich nahe über der Schlammoberfläche besonders bei stehenden Gewässern eine sauerstoffarme Schicht bilden muß, die dann das respiratorische Milieu der Tubificiden bildet.

Vor einiger Zeit ist eine umfangreiche Monographie über die respiratorischen Mechanismen der *Tubificiden* von Alsterberg (1922, vgl. auch 1924) erschienen, in welcher der Atmungsmechanismus dieser Tiere eingehend untersucht worden ist. Es stellte sich dabei heraus, daß diese Würmer Enddarmatmung besitzen und mit ihrem Hinterende, das normalerweise aus dem Schlamm herausragt, eine bestimmte „respiratorische Schicht" über der Schlammoberfläche aufsuchen, die mit abnehmendem Sauerstoffgehalt des Wassers aufwärts wandert. Das Aufsuchen dieser Schicht wird teilweise dadurch erreicht, daß die Länge des herausragenden Hinterendes mit abnehmendem Sauerstoffgehalt des Wassers zunimmt. Allerdings würde sich auf diese Weise kein großer Effekt erzielen lassen, wenn nicht ergänzend eine andere Erscheinung hinzukäme: Eine rhythmische Wellenbewegung des Hinterendes, die bei hohem Sauerstoffdruck fehlt, bei abnehmender Sauerstoffspannung (14—4 ccm O_2 pro Liter) einsetzt und mit weiter fallendem Sauerstoffgehalt an Intensität zunimmt. Diese Wellenbewegung verursacht ein Strömen des Wassers von oben nach unten und bringt dadurch das Wasser der günstigen respiratorischen Schicht, wenn diese selbst durch das Hinterende nicht mehr erreichbar ist, an das Hinterende des Tieres heran. Von Bedeutung ist es, daß Länge des herausragenden Hinterendes und Frequenz der Rhythmik nur vom Sauerstoffgehalt abhängig sein sollen, daß also nur der Sauerstoff atmungsregulatorisch wirksam ist und

nicht das Kohlendioxyd oder die Wasserstoffionenkonzentration. Versuche Alsterbergs in dieser Richtung sind durch meine eigenen Experimente ergänzt worden (vgl. Kapitel C).

Für die Untersuchung des Atmungsprozesses der *Tubificiden* sind verschiedene Methoden möglich. Man kann einerseits den Sauerstoff- und Kohlendioxydumsatz gleichzeitig, d. h. nebeneinander in derselben Apparatur bestimmen und so durch eine Anzahl von Experimenten die Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme und der Kohlendioxydabgabe vom Sauerstoffdruck feststellen; dabei erhält man zugleich die Werte des für die Beurteilung der Atmungsprozesse wichtigen respiratorischen Quotienten $\left(RQ = \frac{CO_2}{O_2}\right)$. Andererseits kann man den Sauerstoffverbrauch und die Kohlendioxydproduktion nacheinander, also unabhängig voneinander bestimmen und die Beziehung zwischen Sauerstoff- und Kohlendioxydkurve später durch Feststellung eines einzelnen RQ herstellen. Letztere Methode ist von Vorteil, da hier eine größere Mannigfaltigkeit der Versuchsanordnungen möglich ist, die schnelle und genaue Bestimmungen gestatten; der Mangel der indirekten Feststellung der Mehrzahl der RQ wird dadurch weitgehend ausgeglichen.

Von großer Bedeutung für den Ausfall der Experimente ist der Zustand der Tiere während der Versuchsdauer. Krogh hat bei seinen Untersuchungen, um die Größe der Atmungsintensität seiner Versuchstiere konstant zu gestalten, sogenannte „Standardbedingungen" geschaffen, bei denen nur der „Grundstoffwechsel" bestimmt wird. Diese Standardbedingungen wurden in meinen Experimenten mit einer Ausnahme innegehalten: die Tiere wurden nicht narkotisiert, d. h. nicht in ihrer Bewegungsfähigkeit gehemmt. Es kam bei den Untersuchungen an *Tubifex* nicht so sehr auf den Grundstoffwechsel als vielmehr auf den Stoffwechsel unter möglichst natürlichen Bedingungen an. Dazu aber durften die Tiere nicht narkotisiert werden, da hierbei z. B. die Rhythmik des Hinterendes gehemmt worden wäre. Eine Konstanz der Atmungsgröße wurde trotzdem erzielt, da einerseits nervöse Erregungen der Tiere (besonders durch Erschütterungen hervorgerufen) sorgfältig vermieden wurden (weiche, federnde Unterlage der Atmungsgefäße), und weil andererseits bei der stets vorhandenen großen Tierzahl (stets über 1000) die Gesamtbewegungsgröße wohl als Konstante anzunehmen war. Zur Schaffung möglichst natürlicher Bedingungen wurde ferner der Boden der Atmungsgefäße mit einer etwa 1—1,5 cm hohen Schicht ausgeglühten Sandes bedeckt, in den die Tiere sich mit ihren Vorderenden einbohrten. Eine Nahrungsaufnahme allerdings konnte nicht ermöglicht werden, da hierdurch die Atmungsgröße zu variabel geworden wäre; vielmehr wurden die Tiere im Hungerzustand (zwischen dem 3. und 5., zum Teil auch 6. Hungertag) untersucht. Wie durch Versuche festgestellt wurde,

blieb der Sauerstoffverbrauch in diesem Zeitraum konstant. Im allgemeinen wurde *Tubifex tubifex* (Müll.) verwendet, nur bei den Untersuchungen über die atmungsregulatorische Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration wurde teilweise *Limnodrilus claparèdeianus* (Ratzel) benutzt.

Ich möchte nicht verfehlen, an dieser Stelle den Herren Prof. Dr. F. Alverdes und Privatdozent Dr. C. Schlieper, von denen ich die Anregung zu vorliegender Arbeit empfing, meinen Dank auszusprechen.

B. Der Stoffwechsel der Tubificiden bei variierten Sauerstoffspannungen.

I. Der oxybiotische Stoffwechsel.

1. Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauchs vom Sauerstoffdruck; Bedeutung des Hämoglobins.

Bei höheren Tieren, insbesondere Wirbeltieren, besteht eine weitgehende Unabhängigkeit des Sauerstoffverbrauchs vom Sauerstoffdruck, d. h. innerhalb weiter Grenzen der Sauerstoffspannung ändert sich die Sauerstoffaufnahme dieser Tiere nicht. Das drückt sich in der Sauerstoffkurve (Abszisse: Sauerstoffdruck, Ordinate: Sauerstoffverbrauch) aus, indem diese bis zu einem bestimmten „kritischen" Sauerstoffdruck abwärts der Abszisse parallel läuft. So ist z. B. bei *Tenebrio*-Puppen der Sauerstoffverbrauch bei allen Sauerstoffspannungen über 5% konstant und beginnt erst unterhalb dieses Wertes (des Grenzwertes) zu sinken. Die Deutung dieser Erscheinung ist recht einfach und stammt schon von Pflüger: Sofern die Zelle genügend Sauerstoff zur Verfügung hat, reguliert sie ihren Sauerstoffbedarf selbst, der „limitierende Faktor" des Stoffwechsels ist in diesem Falle nicht der Sauerstoff, sondern die Menge des gelieferten Brennmaterials. Erst unterhalb des genannten Grenzwertes, bei dem der Sauerstoffbedarf der Zelle gerade noch befriedigt werden kann, tritt der Sauerstoffdruck bestimmend für den Sauerstoffverbrauch in den Vordergrund. Mit anderen Worten: Solange die Sauerstoffspannung in den Geweben positiv ist, ist der Sauerstoffverbrauch unabhängig vom äußeren Sauerstoffdruck, wenn sie — wenigstens in einigen Gewebepartien—Null wird, so bedingt der Sauerstoffdruck die Größe des Sauerstoffkonsums. Für die höheren Tiere (Insekten, Vertebraten) muß man demnach einen Überschuß an Sauerstoff in den Geweben annehmen; tatsächlich haben experimentelle Untersuchungen den Nachweis eines solchen positiven Sauerstoffdruckes in den Geweben erbracht.

Bei vielen Wirbellosen liegen die Verhältnisse anders: Bei ihnen fällt die Sauerstoffkurve mit abnehmender Sauerstoffspannung dauernd, d. h. bei ihnen ist der Sauerstoffverbrauch normalerweise abhängig vom äußeren Sauerstoffdruck. Liegen nun bei diesen Tieren andere Verhält-

nisse vor als bei höheren, d. h. reguliert bei ihnen nicht mehr die Zelle ihren Sauerstoffverbrauch selbst, sondern tut dies ein anderer Faktor? Wenn man die Tiere, bei denen Sauerstoffverbrauch und Sauerstoffdruck voneinander abhängen (z. B. *Actinia*, *Helix*, *Sipunculus* u. a.), näher betrachtet, so erkennt man bald, daß sie sämtlich über Atmungsorgane verfügen, deren atmende Oberflächen verhältnismäßig klein sind. Es ist daher die Annahme berechtigt, daß bei diesen Tieren zwar auch der Sauerstoffbedarf von der Zelle selbst reguliert wird, daß aber schon normalerweise der Sauerstoffdruck wenigstens in einem Teil der Gewebe Null ist, daß also unter normalen Verhältnissen der Sauerstoffbedarf schon nicht mehr gedeckt werden kann (Krogh 1916). Steigt der Sauerstoffdruck, so kann eine größere Anzahl Zellen mit Sauerstoff versorgt werden als zuvor, da infolge des größeren Diffusionsgefälles der Sauerstoff tiefer in die Gewebe hineindringen kann; der Sauerstoffverbrauch muß also steigen. Untersucht man einzelne Zellen solcher Tiere, z. B. Eier von *Strongylocentrotus* (Henze 1910), bei denen der Sauerstoff wegen der größeren Oberfläche und geringeren Diffusionsstrecke leicht ins Zellinnere hineindiffundieren kann, so findet man weitgehende Unabhängigkeit des Sauerstoffverbrauchs vom Sauerstoffdruck. Damit ist der Beweis erbracht, daß im Prinzip bei niederen Tieren die gleichen Verhältnisse vorliegen, wie bei höheren, und daß die scheinbare Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauchs von der Sauerstoffspannung nur durch die unzureichende Sauerstoffversorgung der Gewebe vorgetäuscht wird. Erhöht man den Sauerstoffdruck über die Norm, so muß man schließlich an einen Grenzwert kommen, oberhalb dessen der Sauerstoffverbrauch nicht mehr zunimmt; solche Grenzwerte sind in der Tat für verschiedene Tiere festgestellt worden, z. B. beträgt er bei *Limax* 324 mm Hg (Pütter 1927).

Es liegen also bei niederen und höheren Tieren bezüglich der Regulation der Sauerstoffaufnahme die gleichen Verhältnisse vor, nur daß bei niederen Tieren infolge der ungenügenden Sauerstoffversorgung ein positiver Gewebedruck erst bei sehr hohem Sauerstoffdruck herbeigeführt wird, der Grenzwert also sehr hoch liegt und unter normalen Verhältnissen nie erreicht wird.

Die ersten Untersuchungen, durch die eine dauernd ansteigende Sauerstoffkurve festgestellt wurde, sind von Thunberg (1905) an *Tenebrio*, *Limax* und *Lumbricus* durchgeführt worden. Zur Erklärung der Form seiner Kurven zieht dieser Forscher das Massenwirkungsgesetz und die Biogenhypothese heran. Diese Anschauungen sind heute überholt.

Die Untersuchungen Thunbergs an *Tenebrio* sind später von Gaarder (1918) angegriffen worden, der den respiratorischen Stoffwechsel der Mehlkäferpuppen erneut untersucht hat. Gaarder fand in den Geweben

einen Sauerstoffdruck von 15,8%, demzufolge müßte die Sauerstoffaufnahme in weiten Grenzen unabhängig vom Sauerstoffdruck sein. In der Tat bleibt der Verbrauch an Sauerstoff bis zu einer Sauerstoffspannung von 5% konstant. Dieses Ergebnis stimmt sehr gut mit der Theorie überein: Der Gewebesauerstoff wird, da er um 5% gegen das Außenmedium differiert, bei 5% Sauerstoffdruck Null und von diesem Wert an beginnt tatsächlich der Sauerstoffkonsum zu sinken.

Von Insekten ist außer *Tenebrio* noch *Dixippus morosus* durch v. Buddenbrock und v. Rohr (1923) untersucht worden. Die Grenzspannung liegt hier bei 7,5% O_2 (17° C), es herrscht also unter normalen Bedingungen stets positiver Sauerstoffdruck. Die Insekten gehören offensichtlich jener Gruppe der höheren Tiere an, bei denen die Sauerstoffaufnahme in weiten Grenzen unabhängig von der Sauerstoffspannung ist.

Weitere Untersuchungen über den Verlauf der Sauerstoffkurve bei niederen Tieren stammen von Henze (1910). Nach diesen ist der Sauerstoffverbrauch bei *Carcinus*, *Aplysia*, *Eledone* und pelagischen Tieren (*Pelagia noctiluca*, *Carmarina hastata*), bei denen die atmende Oberfläche offensichtlich für die geringe Menge der atmenden Substanz ausreicht, in weiten Grenzen unabhängig vom Sauerstoffdruck, bei *Actinia*, *Anemonia* und *Sipunculus* hingegen abhängig hiervon.

Konopacki (1907) fand, daß beim Regenwurm (*Lumbricus terrestris* und anderen) bei Erniedrigung des Sauerstoffgehaltes von 20% auf 10% zunächst nur langsame, dann eine schnellere Abnahme des Sauerstoffverbrauchs stattfindet. Diese Messungen zeigen allerdings große Schwankungen in den einzelnen Versuchsserien auf. — Im Gegensatz zu Thunberg und Konopacki stellten Dolk und van der Paauw (1929) in neueren Untersuchungen mittels der Kroghschen Methode (Respirationsmanometer) fest, daß der Sauerstoffverbrauch beim Regenwurm bis zu einem Sauerstoffgehalt von 2,5% unabhängig vom Sauerstoffdruck ist. Danach wäre also ein hoher Sauerstoffdruck der Gewebe zu erwarten, während er nach den Ergebnissen Thunbergs und Konopackis unter normalen Verhältnissen Null sein müßte. Experimentell gefunden wurde ein Sauerstoffgewebedruck von 1,9% (Adler, zit. nach Gaarder 1918), demzufolge müßte, da die Druckdifferenz zwischen Gewebe und Luft 19% O_2 beträgt, der Sauerstoffverbrauch des Regenwurms von 19% O_2 im Außenmedium an abwärts von der Sauerstoffspannung abhängig sein. Man erkennt jedenfalls aus diesen kurzen Andeutungen, daß diese Verhältnisse beim Regenwurm noch nicht vollständig geklärt sind.

Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit der Sauerstoffaufnahme von der Sauerstoffspannung liegen für Wirbellose nicht vor, auch läßt die Methodik der Untersuchungen, wie sich aus den verschiedenartigen Ergebnissen der Messungen am Regenwurm schließen läßt, noch

manches zu wünschen übrig: Verschiedenartige Methoden ergaben hier jeweils ein völlig anderes Resultat, daraus folgt mit gewisser Wahrscheinlichkeit, daß unsere Methoden zum Teil noch nicht genügend durchgearbeitet und vervollkommnet sind.

Einigermaßen sichere Ergebnisse liefern mittels der WINKLERschen Methode ausgeführte Messungen des Sauerstoffverbrauchs bei Wassertieren; HENZE hat mit dieser Methode gearbeitet, und KROGH (1916) bezeichnet sie als ebenso einfach wie genau. Aus diesem Grunde wurde sie auch in meinen eigenen Untersuchungen über die Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauchs der *Tubificiden* von der Sauerstoffspannung angewandt, und das übliche Verfahren zu diesem Zwecke etwas modifiziert.

Das Prinzip der Messungen ist einfach: Man läßt Tiere in einem bestimmten Volumen Wasser atmen, dessen Sauerstoffgehalt zu Versuchsanfang und -ende gemessen wird. Zwar ändert sich dabei während des Versuchs der Sauerstoffpartiardruck, wenn man jedoch die Sauerstoffdifferenzen nicht allzu groß wählt (12—15% bei hohem, 20—30% bei niedrigem Sauerstoffdruck), so werden die Werte brauchbar sein. Wenn es sich, wie in unserem Falle, um relative Messungen handelt, so ist es nicht nötig, die Versuchsergebnisse auf die Einheiten (Sauerstoffverbrauch pro Gramm Trockengewicht pro Stunde) umzurechnen, sondern die Differenzen des Sauerstoffgehalts geben unmittelbar den (relativen) Sauerstoffverbrauch an (vorausgesetzt, daß Tiermenge, Volumen des Versuchsgefäßes, Versuchszeit und Temperatur gleich bleiben).

Die Apparatur, die angewandt wurde, ist in Abb. 1 wiedergegeben. Das Atmungsgefäß (*A*) von etwa 1,2 l Inhalt steht in einem Wasserthermostaten zur Konstanterhaltung der Temperatur während des Versuchs. Es ist von Bedeutung, daß das Wasser innerhalb des Atemgefäßes während der Untersuchungen stets überall den gleichen Sauerstoffdruck aufweist; unter gewöhnlichen Bedingungen erschöpft sich aber der Sauerstoffgehalt durch den Verbrauch in der Nähe der Tiere, und hierdurch können die Ergebnisse weitgehend beeinflußt werden. Diesem Mangel wurde durch eine mechanisch betriebene Rührvorrichtung abgeholfen. Die Achse des Rührers (*g*) besteht aus nichtrostendem Stahl (*V II a*) und ist innerhalb des Gummistopfens, der das Atemgefäß abschließt, in Messing gelagert; der dadurch erzielte Abschluß des Atemgefäßes gegen die Außenluft ist vollständig genug. Die Achse des Rührers steht mittels Vacuumschlauch in Verbindung mit der Achse eines Rades, das von einer Wasserturbine oder einem kleinen Elektromotor angetrieben wird. Das Atemgefäß selbst muß zur Erhöhung seiner Standfestigkeit beschwert sein (Eisenring) und vor Erschütterungen jeglicher Art geschützt werden (Filzunterlage des Thermostaten).

Der Versuch verläuft folgendermaßen: Nachdem ausgeglühter Sand

(in den die Tiere sich einbohren können) und eine Portion Würmer (Hungertiere zwischen dem 3. und 5. Hungertag) in das Atemgefäß gebracht sind, und nachdem die Tiere sich während der Nacht in langsam fließendem Wasser eingewöhnt haben, wird aus einer 10 l-Flasche durch

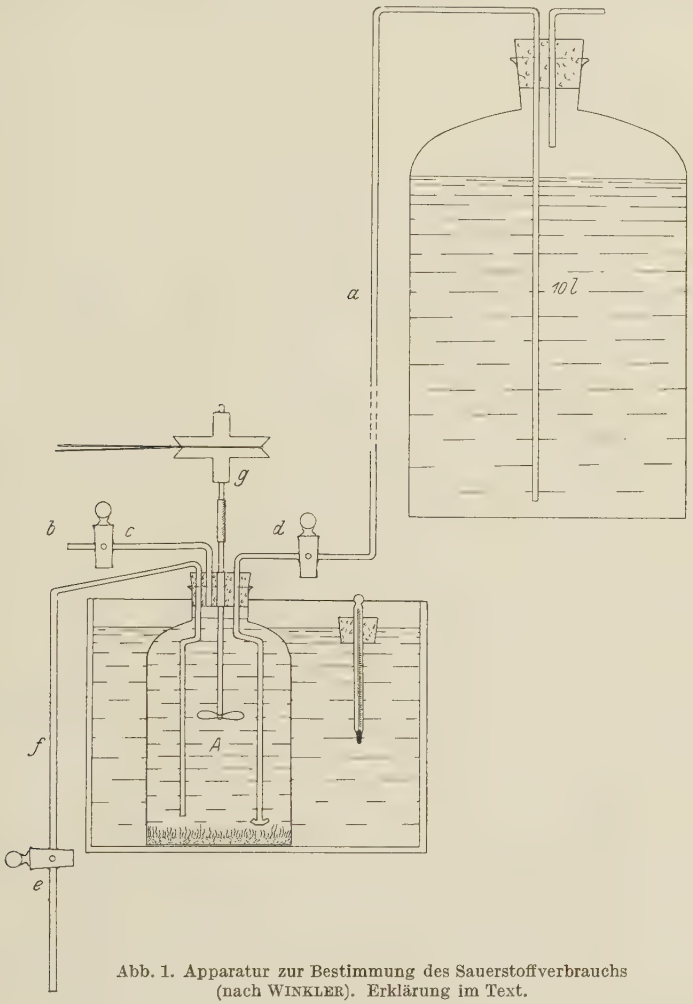

Abb. 1. Apparatur zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs (nach WINKLER). Erklärung im Text.

a gut durchmischtes Wasser von Versuchstemperatur in das Atemgefäß geleitet; durch *b* kann das Wasser abfließen. Der Sauerstoffdruck des Versuchswassers wird durch vorheriges Einleiten von Luft oder Stickstoff aus einer Bombe variiert. Wenn der Sauerstoffverbrauch bei sehr niedrigem Sauerstoffgehalt bestimmt werden soll, muß dem Bombenstickstoff (da er 1—2% O_2 enthält) noch durch alkalische Pyrogallol-

lösung der restliche Sauerstoff teilweise oder ganz entzogen werden. Das Versuchswasser der 10 l-Flasche verdrängt allmählich das ursprünglich im Atemgefäß vorhandene Wasser und fließt eine Zeitlang durch das Atemgefäß, während welcher sich die Tiere an den Sauerstoffdruck des Versuchs gewöhnen. Zu diesem Zweck läßt man die 10 l-Flasche langsam leerlaufen, was etwa $^1/_2$ Stunde beansprucht. Einige Zeit vor Versuchsanfang setzt man die Rührvorrichtung in Tätigkeit und leitet das abfließende Wasser auf den Boden einer etwa 250 ccm fassenden WINKLER-Flasche. Nachdem diese etwa 3—4mal durchströmt ist, analysiert man das Wasser[1] und beginnt gleichzeitig den Versuch (Schließen der Hähne *c* und *d*). Während des Versuchs dürfen Luftblasen im Atemgefäß weder vorhanden sein noch sich bilden, da sonst wegen der Diffusion zwischen Wasser und Luftblase die Versuchsergebnisse ungenau werden müssen. Nach einer bestimmten Zeit (etwa 50 Min.) unterbricht man den Versuch, man stellt das Rührwerk ab, öffnet *c* und entnimmt durch *f* das Wasser zur zweiten Sauerstoffbestimmung (WINKLER-Flasche von 250 ccm, 3—4maliges Durchströmenlassen des Wassers). Dann leitet man etwa 2 Stunden langsam Leitungswasser durch das Atmungsgefäß, damit die Tiere sich erholen können; daraufhin kann ein neuer Versuch beginnen.

Der Apparat hat gegenüber anderen O_2-Bestimmungsapparaten den Vorteil der leichten Handhabung, die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs wird selbst bei geringen Sauerstoffdifferenzen genau genug; natürlich darf man die Sauerstoffdifferenzen nicht allzu groß wählen (vgl. S. 564), da sich sonst der zu Anfang und Ende des Versuchs verschiedene Sauerstoffpartiardruck nachteilig bemerkbar macht. Um Resultate verschiedener Versuchsserien miteinander vergleichen zu können, ist die Feststellung des Trockengewichts der Versuchstiere am Ende jeder Versuchsreihe notwendig. Der Sauerstoffverbrauch kann dann auf 1 g Trockengewicht umgerechnet werden.

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt worden.

Das p_H liegt bei allen Versuchen konstant zwischen 6,80 und 6,95 (vereinzelt 7,00), die Temperatur schwankt zwischen 18,9 und 19,2° C. Die Versuchsdauer beträgt im allgemeinen 50 Min. Die Werte des Sauerstoffverbrauchs sind in Kubikzentimeter pro Liter angegeben und zwar für 1 g Tier (Trockengewicht) bei 50 Min. Versuchsdauer. Vereinzelte Werte fallen sehr aus der Reihe der übrigen Ergebnisse heraus, diese sind in der Tabelle mit Fragezeichen versehen worden und in der graphischen Darstellung der Ergebnisse (Abb. 2) unberücksichtigt geblieben. In der Kurve (Abb. 2) bedeuten die Abszissenwerte den Sauerstoffgehalt in Kubikzentimeter pro Liter (6,4 ccm pro Liter entsprechen 21% O_2 oder

[1] Titriert wurde mit $\frac{n}{50}$ Natriumthiosulfatlösung.

Tabelle 1.

Datum	Temperatur	Trokkengewicht	Zeit	O_2 vorher — O_2 nachher (ccm pro l)	O_2-Mittel	O_2-Differenz	O_2-Verbrauch pro g Trokkengewicht in 50 Min. relativ	Bemerkung
8. I. 30	19,1	1,190	45	2,610 – 2,044	2,327	0,566	0,529	
	19,1		50	2,683 – 2,040	2,361	0,643	0,540	
	19,0		50	1,914 – 1,260	1,587	0,654	0,550	? Luftblasen
9. I. 30	19,0		50	6,619 – 5,884	6,241	0,735	0,618	
	19,1		50	1,500 – 0,981	1,231	0,519	0,436	
	19,1		50	1,758 – 1,182	1,470	0,576	0,484	
	19,1		50	6,524 – 5,753	6,113	0,771	0,648	
11. I. 30	19,1		50	1,982 – 1,346	1,664	0,636	0,534	
	19,2		50	6,891 – 6,095	6,493	0,795	0,668	
	19,0		50	1,701 – 1,181	1,441	0,520	0,437	
	19,1		50	3,224 – 2,556	2,890	0,668	0,561	
	19,0		50	4,563 – 3,813	4,188	0,750	0,630	
14. I. 30	19,1	1,320	50	2,548 – 1,887	2,217	0,661	0,501	
	19,1		50	6,600 – 5,787	6,193	0,813	0,616	
	19,0		51	0,965 – 0,511	0,738	0,454	0,338	
15. I. 30	19,3		50	1,370 – 0,900	1,135	0,470	0,356	
	19,2		50	6,019 – 5,135	5,577	0,884	0,669	
	19,1		50	2,496 – 1,786	2,142	0,710	0,539	
	19,0		49	4,875 – 4,211	4,543	0,664	0,513	?
	19,2		50	1,514 – 0,907	1,211	0,607	0,460	
16. I. 30	19,1		50	1,071 – 0,528	0,799	0,543	0,411	
	19,1		50	5,419 – 4,616	5,017	0,803	0,609	
	19,0		50	1,819 – 1,191	1,505	0,628	0,476	
	19,1		50	4,770 – 3,965	4,367	0,805	0,611	
	19,1		50	2,547 – 1,957	2,202	0,590	0,477	
17. I. 30	19,0		50	2,062 – 1,416	1,738	0,645	0,489	
21. I. 30	19,2	1,242	50	1,216 – 0,666	0,941	0,550	0,444	
	19,1		50,5	5,762 – 4,999	5,380	0,763	0,610	
	19,0		50	1,810 – 1,357	1,583	0,453	0,365	? Luftblasen
22. I. 30	19,0		50	4,845 – 4,096	4,470	0,749	0,603	
	18,9		50	0,796 – 0,500	0,648	0,296	0,238	
	19,1		50	6,533 – 5,739	6,146	0,814	0,657	
23. I. 30	19,0		51,2	6,527 – 5,730	6,128	0,797	0,630	
	18,9		50	0,952 – 0,590	0,771	0,362	0,292	
	18,9		50	6,134 – 5,343	5,738	0,791	0,638	
	19,2		50	2,088 – 1,628	1,858	0,460	0,371	?
4. II. 30	19,0	1,250	50	5,223 – 4,477	4,852	0,746	0,597	
	19,0		50	3,319 – 2,669	2,994	0,650	0,520	

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Datum	Temperatur	Trokkengewicht	Zeit	O_2 vorher — O_2 nachher (ccm pro l)	O_2-Mittel	O_2-Differenz	O_2-Verbrauch pro g Trokkengewicht in 50 Min. relativ	Bemerkung
4. II. 30	19,0	1,250	50	1,128 – 0,581	0,854	0,547	0,437	
	19,1		50	5,151 – 4,367	4,758	0,782	0,626	
5. II. 30	19,2		50	1,828 – 1,200	1,514	0,628	0,502	
	19,1		50	5,519 – 4,779	5,149	0,740	0,592	
	18,9		50	0,564 – 0,362	0,463	0,202	0,162	
	19,2		50	1,921 – 1,313	1,617	0,608	0,486	
6. II. 30	18,9		50	0,846 – 0,473	0,659	0,373	0,298	
	19,0		50	6,486 – 6,091	6,288	0,395	0,316	?
	12,0		50	0,546 – 0,319	0,432	0,227	0,182	
3. III. 30	18,9	1,100	50	1,568 – 1,049	1,309	0,519	0,472	
	18,9		50	6,739 – 6,065	6,402	0,674	0,613	
	18,9		51	0,941 – 0,713	0,827	0,228	0,204	? Luftblasen
	19,1		50,5	6,629 – 5,643	6,036	0,986	0,887	?
	19,2		50,5	0,731 – 0,488	0,609	0,243	0,217	
	19,0		50	6,524 – 5,822	6,173	0,702	0,638	
4. III. 30	18,9		50,5	1,470 – 1,019	1,245	0,451	0,406	
	19,1		50	1,289 – 0,846	1,067	0,443	0,403	
	19,0		49,5	6,190 – 5,447	5,818	0,743	0,682	
	19,0		50	0,496 – 0,352	0,424	0,144	0,131	
	18,9		50	0,333 – 0,264	0,298	0,069	0,063	
	19,2		50	0,374 – 0,238	0,304	0,136	0,124	
5. III. 30	19,0		50	2,995 – 2,411	2,699	0,576	0,524	
	19,2		53,5	1,000 – 0,647	0,822	0,353	0,290	
	18,9		50	1,319 – 0,867	1,093	0,452	0,411	
	18,9		50	0,995 – 0,647	0,821	0,348	0,316	
	19,1		50	1,039 – 0,668	0,853	0,371	0,336	
	18,9		50	2,346 – 1,791	2,068	0,555	0,505	
	19,0		50	6,302 – 5,616	5,959	0,686	0,624	

160 mm Hg O_2-Druck), die Ordinatenwerte den O_2-Verbrauch in beliebigen Einheiten.

Die Kurve zeigt deutlich, daß der Sauerstoffverbrauch weitgehend vom Sauerstoffpartiardruck abhängig ist. Die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs erfolgt bei geringer Sauerstoffspannung schneller als bei höherer; die Kurve nähert sich offensichtlich einem Maximalwert, auf dessen Feststellung jedoch in diesem Zusammenhang verzichtet wurde. Damit ist aber die eigenartige Form der Kurve noch nicht erklärt, wenigstens erscheint der plötzliche Abfall bei einem Sauerstoffgehalt von

etwa 1—1,5 ccm pro Liter recht eigenartig. Es sieht fast so aus, als ob in Wirklichkeit die Kurve bei höherem Sauerstoffdruck parallel der Abszisse verläuft und diese Parallelität nur durch Unvollkommenheit der Untersuchungsmethode nicht klar zum Ausdruck kommt. Gegen eine solche Auffassung spricht jedoch, daß die gefundenen einzelnen Sauerstoffverbrauchswerte von den Punkten der Kurve stets nur wenig abweichen, und bei der großen Anzahl der Bestimmungen ein Fehler bei einigen Werten doch klar in Erscheinung treten müßte. Es ist deshalb wahrschein-

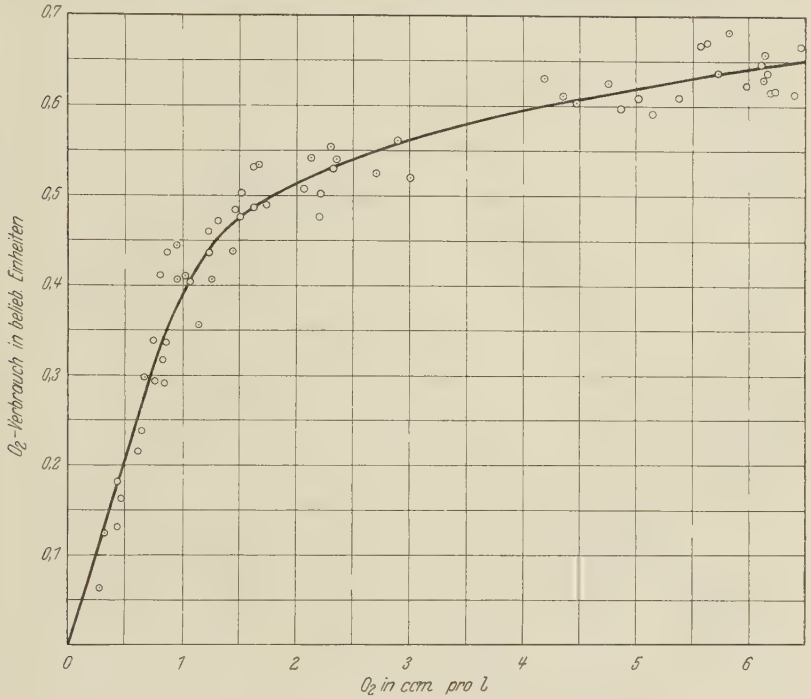

Abb. 2. Kurve des Sauerstoffverbrauchs von *Tubifex* bei verschiedenen Sauerstoffspannungen

licher, daß die eigentümliche Gestalt der Kurve durch einen anderen Faktor bedingt wird. Dieser Faktor wurde im Hämoglobin der Würmer vermutet. Zur Nachprüfung dieser Möglichkeit wurde der Sauerstoffverbrauch von Tieren bestimmt, deren Hämoglobin durch CO unwirksam gemacht worden war. Das CO führt das Hämoglobin in Kohlenoxydhämoglobin über, ist aber selbst auf die Atemgröße nur von geringer Wirkung (vgl. Dolk und van der Paauw 1929).

Die Versuchsanordnung entspricht im wesentlichen derjenigen, die bei der Bestimmung des O_2-Verbrauchs angewendet wurde, nur mußte das Versuchswasser noch mit einem bestimmten CO-Gehalt versehen werden, um das Hämoglobin unwirksam zu machen. Zu diesem Zwecke

wurde mittels einer zwischengeschalteten Luftpumpe ein Kreislauf zwischen einer Wasser enthaltenden 10 l-Flasche und einer mit N_2-O_2-Gemisch gefüllten 10 l-Flasche, die außerdem 1,5% CO[1] enthielt, hergestellt. Nach 1 Stunde bestand ein Gleichgewicht im Gasdruck beider Flaschen, und das Wasser der einen Flasche konnte als Atmungsmedium, wie beschrieben, gebraucht werden. Um nach den Versuchen eine Rückbildung des Kohlenoxydhämoglobins zu Hämoglobin zu ermöglichen, wurden die Pausen zwischen den Versuchen größer gewählt als bei den früheren Bestimmungen.

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 2 und in Abb. 3 dargestellt. Es tritt deutlich zutage, daß der Sauerstoffverbrauch der COHb-Tiere

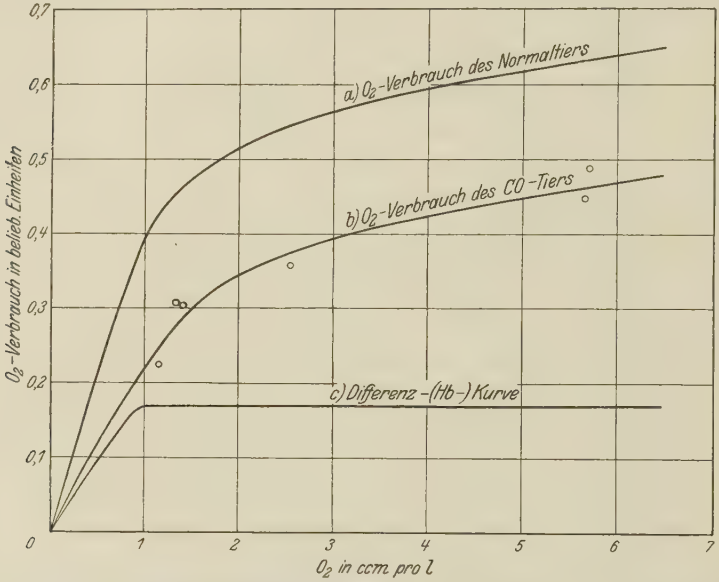

Abb. 3. Kurven des Sauerstoffverbrauchs. a) Normale Tiere. b) Tiere, deren *Hb* durch *CO* ausgeschaltet ist. c) Differenz der Kurven a und b = *Hb*-Kurve.

bedeutend hinter dem der Hb-Tiere zurückbleibt, und zwar um einen Betrag, der durch Schädigung der Atemfunktion der Tiere durch CO — wenn man von der Ausschaltung des Hämoglobins absieht — nicht erklärt werden kann.

Die Kohlendioxydproduktion der COHb-Tiere ist wenigstens gleich der der Hb-Tiere. Es ist demnach zu vermuten, daß das CO außer durch Ausschaltung des Hämoglobins nicht schädigend auf die Atemfunktion wirkt (vgl. Tabelle 2 a; die Methodik, nach der die Werte dieser Tabelle gefunden wurden, ist weiter unten [S. 576 f.] beschrieben).

[1] Hergestellt aus Ameisensäure durch Wasserentzug mittels Schwefelsäure.

Tabelle 2.

Datum	Temperatur	Trocken-gewicht	CO-Vermerk	Zeit	O_2 vorher — O_2 nachher (ccm pro l)	O_3-Mittel	O_2-Differenz	O_2-Verbrauch pro g in 50 Minuten relativ	Pause zwischen den Versuchen in Stunden
7. III. 30	19,0	1,235	–	50	2,638 – 1,955	2,296	0,683	0,553	
									1,5
	19,0		–	50,2	6,032 – 5,202	5,617	0,830	0,672	
									1,5
	19,0		–	50	1,207 – 0,707	0,957	0,500	0,405	
									2,5
	19,2		+	50	2,766 – 2,325	2,545	0,441	0,357	
									3,4
	18,9		+	50	1,573 – 1,200	1,386	0,373	0,302	
									10,6
8. III. 30	19,0		–	50	1,955 – 1,296	1,626	0,659	0,533	
									1,5
	19,0		–	51	5,972 – 5,272	5,622	0,700	0,567	
									3,1
	19,0		+	50	1,290 – 1,014	1,152	0,276	0,224	
									3,8
	19,1		+	50	5,998 – 5,393	5,695	0,605	0,490	
									12,2
9. III. 30	19,3		+	50	2,127 – 1,750	1,363	0,377	0,305	
									3,8
	19,0		+	50	5,919 – 5,375	5,647	0,544	0,440	
									3,0
	19,0		+	50	1,105 – 0,854	0,979	0,251	0,203	

Tabelle 2a.

O_2 vorher — O_2 nachher (ccm pro l)	O_2-Mittel	Temperatur	CO-Vermerk in %	Dauer der p_H-Änderung von 8,10—7,65 in Minuten	Maximaler Ablesefehler
−6,13	6,13	18,0	—	22,0	± 1
−6,54	6,54	18,1	2−2,5	23,2	± 1
1,72−1,39	1,56	18,0	2−2,5	25,5	± 1
−4,27	4,27	18,1	2−2,5	22,8	± 1

Es ist bekannt, daß die „Ladungsspannung“[1] des Hämoglobins meist bei relativ niedriger Sauerstoffspannung liegt (z. B. beim Menschen bei 85 mm Hg, bei *Arenicola* [nach Barcroft 1924] bei 5 mm Hg), da das Gleichgewicht $HbO_2 \rightleftarrows Hb + O_2$ sich erst bei sehr geringem Sauerstoffpartiardruck zugunsten des reduzierten Hämoglobins einstellt. Darin liegt ja gerade die Bedeutung der respiratorischen Farbstoffe, daß sie schon bei niedrigem Sauerstoffdruck vollständig mit Sauerstoff gesättigt und daher Sauerstoffüberträger von großer Kapazität sind. Man glaubt deshalb die Bedeutung des Hämoglobinvorkommens bei niederen Tieren darin sehen zu müssen, daß diese Tiere vermöge ihres Hämoglobins selbst in sauerstoffarmen Medien ihren Sauerstoffbedarf decken können. Diese Auffassung ist auch bei einigen Tierformen experimentell begründet worden. So sind z. B. die *Chironomus*-Larven sehr widerstandsfähig gegen Sauerstoffmangel; Leitch (1916) konnte feststellen, daß das Oxyhämoglobin in diesen Larven erst bei einem Sauerstoffdruck von weniger als 7 mm (1%)[2] reduziert wird, daß also Hämoglobin erst unterhalb dieses Wertes zur Sauerstoffübertragung mit herangezogen wird, während bei höherem Sauerstoffdruck der physikalisch im Blut gelöste Sauerstoff zur Sauerstoffversorgung genügt. — Neuerdings haben Dolk und van der Paauw (1929) die Bedeutung des Hämoglobins im Blute des Regenwurms untersucht und gefunden, daß es erst unterhalb 7,5% O_2 in Wirksamkeit tritt. Die Werte des Sauerstoffverbrauchs liegen beim CO-Regenwurm nur ganz unwesentlich unter denen des normalen Tieres, hingegen fällt die Sauerstoffverbrauchskurve beim CO-Tier schon bei einem Sauerstoffgehalt von 7,5% steil ab, beim normalen Wurm aber erst bei 2,5% O_2.

Es liegen jedoch bei *Tubifex* ganz andere Verhältnisse vor als bei der *Chironomus*-Larve und dem Regenwurm, bei denen offenbar innerhalb weiter Grenzen positiver Sauerstoffdruck in den Geweben herrscht. Wir sahen, daß bei den *Tubificiden* die Sauerstoffmenge, die sie verbrauchen, vom Sauerstoffdruck abhängig ist; man muß deshalb annehmen, daß

[1] Unter der Ladungsspannung versteht Krogh den Sauerstoffdruck, bei dem 95% des Hb als O_2Hb vorhanden ist.

[2] Auch Harnisch (1927/29) fand, daß der Sauerstoffverbrauch von *Chironomus* bis zu einem Sauerstoffgehalt von 1—2% konstant ist.

während des Blutkreislaufs stets der gesamte Sauerstoff des Oxyhämoglobins abdissoziiert, denn wenn der Sauerstoffgewebedruck Null ist, so wird das Gleichgewicht zwischen Oxyhämoglobin und Hämoglobin vollständig zuungunsten des Oxyhämoglobins verschoben.

Wenn wir diese Ansicht näher begründen wollen, so ist es nötig nachzuweisen: 1. daß der Sauerstoffgewebedruck tatsächlich Null ist, 2. daß, solange das Hämoglobin sich an den Diffusionsflächen mit Sauerstoff sättigen kann, die Sauerstoffabgabe seitens des Hämoglobins konstant bleibt.

Betrachten wir zunächst den ersten Punkt: Der Krogh'schen Hypothese zufolge, die weiter oben auseinandergesetzt wurde, bleibt der Sauerstoffverbrauch bei variiertem Sauerstoffgehalt des Außenmediums solange konstant, wie der Sauerstoffdruck in den Geweben positiv ist; er wird jedoch von der Sauerstoffspannung abhängig, sobald der Gewebedruck auf Null reduziert wird. Diese Anschauung ist heutzutage experimentell soweit begründet, daß sie als gesichert angesehen werden kann. Aus meinen oben mitgeteilten Untersuchungen an *Tubifex* geht aber mit Sicherheit hervor, daß der Sauerstoffverbrauch — wenigstens unter Verhältnissen, wie sie in der Natur vorkommen — stets vom Sauerstoffdruck abhängig ist, demnach ist also die Annahme eines Sauerstoffdefizits in den Geweben dieser Tiere gerechtfertigt. Offenbar ist die Größe oder die Durchlässigkeit der respiratorischen Flächen, an denen die Sauerstoffdiffusion vom Wasser zum Blut hin stattfinden kann, zu gering, als daß das Blut unter normalen Verhältnissen soviel Sauerstoff aufnehmen könnte wie der Organismus nötig hat.—Es gibt noch ein anderes wichtiges Argument, das zumindest auf einen sehr geringen Sauerstoffgewebedruck hinweist: das Vorhandensein anoxybiotischer Prozesse selbst bei hohem Sauerstoffpartiardruck! Solche anoxybiotischen Umsetzungen treten nämlich, wie es scheint, immer erst dann auf, wenn durch Oxydationen der Energiebedarf der Zelle nicht mehr gedeckt werden kann, d. h. also, wenn der Sauerstoffdruck auf Null gesunken ist. (Näheres darüber im Kapitel über den anoxybiotischen Stoffwechsel.) — Der sicherste Nachweis des Sauerstoffmangels in den Geweben wäre natürlich eine direkte Bestimmung des in ihnen herrschenden Sauerstoffdrucks. Eine solche ist mit Hilfe einer von Krogh ersonnenen Methode zwar möglich, aber doch sehr schwer durchzuführen, besonders an so kleinen Objekten wie *Tubifex*. Es wurde deshalb auf eine direkte Messung dieses Wertes bei *Tubifex* verzichtet. Es mag jedoch in diesem Zusammenhang nicht unerwähnt bleiben, daß der Sauerstoffgewebedruck des Regenwurms von Adler (zit. nach Gaarder 1918) zu 1,9%, also doch ganz erheblich niedriger als bei höheren Tieren gefunden wurde. Es ist demnach wohl möglich, daß er bei *Tubifex* noch geringer sein wird.

Die zweite Forderung war die, daß die Sauerstoffmenge, die das

Hämoglobin liefert, solange konstant ist, als es sich an den Diffusionsflächen mit Sauerstoff sättigen kann. Zu diesem Zwecke muß man die Größe der Sauerstoffmenge bestimmen, die vom Hämoglobin bei verschiedenen Sauerstoffspannungen geliefert wird. Dazu braucht man aber nur die Differenzen zwischen dem Sauerstoffverbrauch eines Normaltieres und dem eines CO-Tieres festzustellen; diese Differenzen können aus den beiden Kurven a und b der Abb. 3 direkt abgelesen werden und sind in der Kurve c der gleichen Abbildung graphisch dargestellt worden. Kurve c zeigt also die Sauerstoffversorgung von *Tubifex* bei verschiedenem Sauerstoffpartiardruck, soweit sie durch das Hämoglobin bestritten wird; sie erfüllt die oben ausgesprochene Forderung voll und ganz: die Sauerstoffmenge, die durch das Hämoglobin an die Gewebe abgegeben wird, ist in weiten Grenzen unabhängig vom Sauerstoffdruck. Aus der Kurve kann man ferner entnehmen, daß das Hämoglobin sich bis zu einem Sauerstoffgehalt im Außenmedium von etwa 1 ccm pro Liter vollständig mit Sauerstoff sättigen kann, d. h. die Ladungsspannung des Hämoglobins beträgt weniger als 25 mm Hg O_2-Druck. Durch letzteren Wert selbst wird sie jedoch wahrscheinlich noch nicht repräsentiert, da anzunehmen ist, daß zwischen Außenmedium und Blutflüssigkeit ein immerhin nicht geringes Diffusionsgefälle besteht, bedingt durch Dicke und Durchlässigkeit der Membranen, an denen die Diffusion stattfindet. Den wahren Wert der Ladungsspannung kann man nur durch direkte spektroskopische Bestimmung der Dissoziationskurve des *Tubificiden*-Hämoglobins feststellen. — Selbst wenn der obere Wert von 25 mm der wirkliche sein sollte, so liegt doch die Ladungsspannung des Hämoglobins von *Tubifex* bedeutend tiefer als bei Wirbeltieren, wie z. B. beim Menschen (85 mm Hg). Diese Tatsache stimmt mit den bisherigen Befunden bei Wirbellosen gut überein. Barcroft (1924) bestimmte die Ladungsspannung des Hämoglobins von *Arenicola* zu 5 mm ($p_H = 7{,}3$), bei *Chironomus* beginnt nach Leitch (1916) das Oxyhämoglobin bei 7,7 mm O_2-Druck in Sauerstoff und Hämoglobin zu dissoziieren, und bei *Planorbis* geschieht dasselbe bei 50 mm O_2-Druck. Die Bedeutung der niedrigen Ladungsspannung des Hämoglobins für *Tubifex* liegt wohl darin, daß das Hämoglobin sich noch bei sehr niedrigem Sauerstoffgehalt des Mediums vollständig mit Sauerstoff sättigen kann und dadurch eine oxybiotische Atmung auch bei sehr niedrigem Sauerstoffgehalt im Außenmedium ermöglicht wird. Es kommt auf diese Weise als Sauerstoffkurve eine Figur zustande, die der Sauerstoffkurve eines Tieres mit positivem Sauerstoffdruck in hohem Grade ähnelt, die jedenfalls eine Mittelstellung einnimmt zwischen der eines Wirbeltieres und eines Wirbellosen, das sich nicht im Besitz eines respiratorischen Atmungspigmentes befindet (vgl. die schematische Abb. 4).

Eine gewisse Schwierigkeit entsteht unserer Erklärung allerdings da-

durch, daß wir genötigt sind anzunehmen, daß die Aufnahmefähigkeit des Hämoglobins bei den *Tubificiden* nicht sehr groß sein kann, daß sie jedenfalls so gering ist, daß der Sauerstoffbedarf dieser Tiere nicht durch den an Hämoglobin gebundenen Sauerstoff gedeckt werden kann. Hierbei bedenke man jedoch, daß die prozentuale Hämoglobinmenge bei Wirbellosen nach den bisherigen Untersuchungen sehr gering ist (bei *Arenicola* gleich $^1/_6$ von der des Menschen, *Planorbis*-Blut bindet nur 2% O_2!), und dementsprechend bei *Tubifex* ohne weiteres so gering sein kann, daß sie zur Deckung des gesamten Sauerstoffbedarfs nicht ausreicht. Ein Sauerstoffgewebedruck von Null vorausgesetzt, muß jedenfalls das Oxyhämoglobin stets voll entladen werden, gleichgültig, wie hoch der Sauerstoffdruck des Außenmediums ist. Es besteht hier also ein gewisser Unterschied gegenüber *Chironomus* und *Lumbricus*, die, wie erwähnt, von ihrem Hämoglobin nur innerhalb eines bestimmten Druckbereichs Gebrauch machen sollen. (Allerdings ist hier meiner Ansicht nach zumindest bei *Lumbricus* noch verschiedenes zu klären; siehe auch S. 563.)

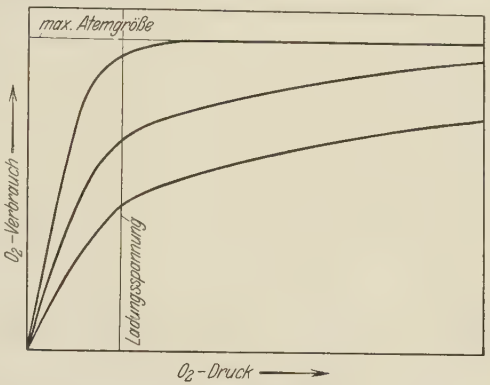

Abb. 4. Schema zur Veranschaulichung der verschiedenen Typen der Sauerstoffversorgung. *Obere Kurve*: Tiere mit ausreichender Hämoglobinmenge, bei denen normalerweise positiver Sauerstoffdruck in den Geweben besteht. a) Das Hämoglobin wird dauernd zur Sauerstoffversorgung herangezogen, der Sauerstoffverbrauch ist solange konstant, als das Hämoglobin sich an den Atemflächen mit Sauerstoff sättigen kann (Wirbeltiere). b) Im allgemeinen genügt der physikalisch im Blut gelöste Sauerstoff zur Sauerstoffversorgung, aber bei niederem Sauerstoffdruck tritt das Hämoglobin als Sauerstoffüberträger in Funktion (*Chironomus*, LEITCH 1916). *Mittlere Kurve*: Tiere mit unzureichender Hämoglobinmenge, bei denen normalerweise ein positiver Sauerstoffdruck in den Geweben nicht existiert. Der Sauerstoffverbrauch wird bestimmt von der Gesamtmenge des physikalisch gelösten und des an Hämoglobin gebundenen Sauerstoffs (*Tubifex*). *Untere Kurve*: Tiere ohne Hämoglobin, bei denen normalerweise ein Sauerstoffdefizit in den Geweben besteht. Der Sauerstoffverbrauch hängt von der Sauerstoffspannung des Außenmediums ab, erst oberhalb des Grenzwertes, bei dem der Sauerstoffgewebedruck positiv wird, wird der Sauerstoffverbrauch konstant (bei *Limax* nach PÜTTER 1927 bei 324 mm O_2-Druck).

2. Abhängigkeit der Kohlendioxydproduktion vom Sauerstoffdruck.

Zur Beurteilung des Atmungsprozesses ist neben der Kenntnis des Sauerstoffverbrauchs diejenige der Kohlendioxydproduktion von Bedeutung, denn wenn die Sauerstoffkurve den oxybiotischen Stoffwechsel klarlegt, so dokumentiert sich in der Kohlendioxydkurve der respiratorische Gesamtstoffwechsel, also sowohl der anoxybiotische wie der oxybiotische. Man kann daher von der Kohlendioxydkurve aus Schlüsse auf den gesamten respiratorischen Stoffwechsel ziehen.

Einigermaßen brauchbare Versuche über die Kohlendioxydproduktion niederer Tiere sind von KONOPACKI (1907) am Regenwurm durchgeführt worden. Er stellte weitgehende Konstanz der CO_2-Abgabe bei allen Sauerstoffwerten fest, während LESSER (1912) später beim gleichen Objekt eine Abnahme der CO_2-Ausscheidung von 13,3[1] (bei 21% O_2) auf 9,2 (bei 0% O_2) fand. Ferner hat HENZE (1910) einige Angaben über die Kohlendioxydproduktion von *Sipunculus nudus* gemacht; aus seinen Werten kann man auch auf einigermaßen konstante CO_2-Abgabe dieser Tiere schließen.

Da es bei der Bestimmung der CO_2-Abgabe von *Tubifex* ebenso wie bei der Feststellung des Sauerstoffverbrauchs nur auf relative Werte ankam, konnte ein Verfahren zur Messung der CO_2-Produktion benutzt werden, das einfach zu handhaben ist und dabei doch gute Resultate liefert: die kolorimetrische CO_2-Bestimmung nach OSTERHOUT (1918). Zwar ist diese Methode auch für absolute CO_2-Mengen ausgebaut worden (PARKER 1922), sie eignet sich indessen besonders zu relativen Messungen.

Das Prinzip des von OSTERHOUT angegebenen Apparates ist folgendes: Mittels eines Gummiballs, der rhythmisch kontrahiert wird, wird ein zirkulierender Luftstrom erzeugt, der zuerst durch das Atemgefäß, dann durch eine auf Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration ansprechende Indikatorlösung (z. B. Phenolrot) geleitet wird. Aus der Farbänderung dieser Indikatorlösung kann man die Atmungsintensität messen, indem man die Zeitdauer feststellt, in der sich der Indikator um ein bestimmtes p_H-Intervall ändert.

Für die folgenden Untersuchungen wurde der OSTERHOUTsche Apparat etwas abgeändert; er sieht dann ungefähr folgendermaßen aus (siehe Abb. 5): Die Luftzirkulation wird durch eine kleine elektrisch betriebene Luftpumpe (*L*) bewirkt, indem sowohl ihre ansaugende wie ihre Luftstrom liefernde Wirkung ausgenutzt wird. Zum Ausgleich der Druckschwankungen innerhalb des Apparates ist zwischen Luftpumpe und Versuchsgefäß ein nachgiebiger Gummiball (*Gb*) angebracht, wie er bei Handgebläsen üblich ist. Dadurch wird einerseits ein ununterbrochener Luftstrom im Versuchsgefäß erzeugt, und andererseits die Druckschwankung innerhalb der Apparatur auf etwa 1 cm Hg reduziert. Das Atemgefäß (*A*, Inhalt etwa 0,5 l) selbst hat außer den drei Öffnungen des OSTERHOUTschen Modelles (*a*, *b*, *c*) eine vierte Öffnung (*d*), durch die ein zweifach gebogenes Rohr bis fast auf den Boden reicht. Dieses Rohr dient zur Entnahme von Wasser für Sauerstoffanalysen nach WINKLER[2]. Das Versuchsgefäß steht in einem mit Wasser gefüllten Thermo-

[1] Relative Einheiten.

[2] Die WINKLER-Flaschen wurden, um die Diffusion zwischen der Flüssigkeit und der darüberstehenden Luft beim Füllen möglichst zu verringern, mit Luft von ungefähr demselben Sauerstoffpartiardruck gefüllt, wie ihn das zu untersuchende

staten, der zur Konstanterhaltung der Temperatur während der Versuche dient. Das Natronkalkrohr (*B*) des OSTERHOUTschen Apparates,

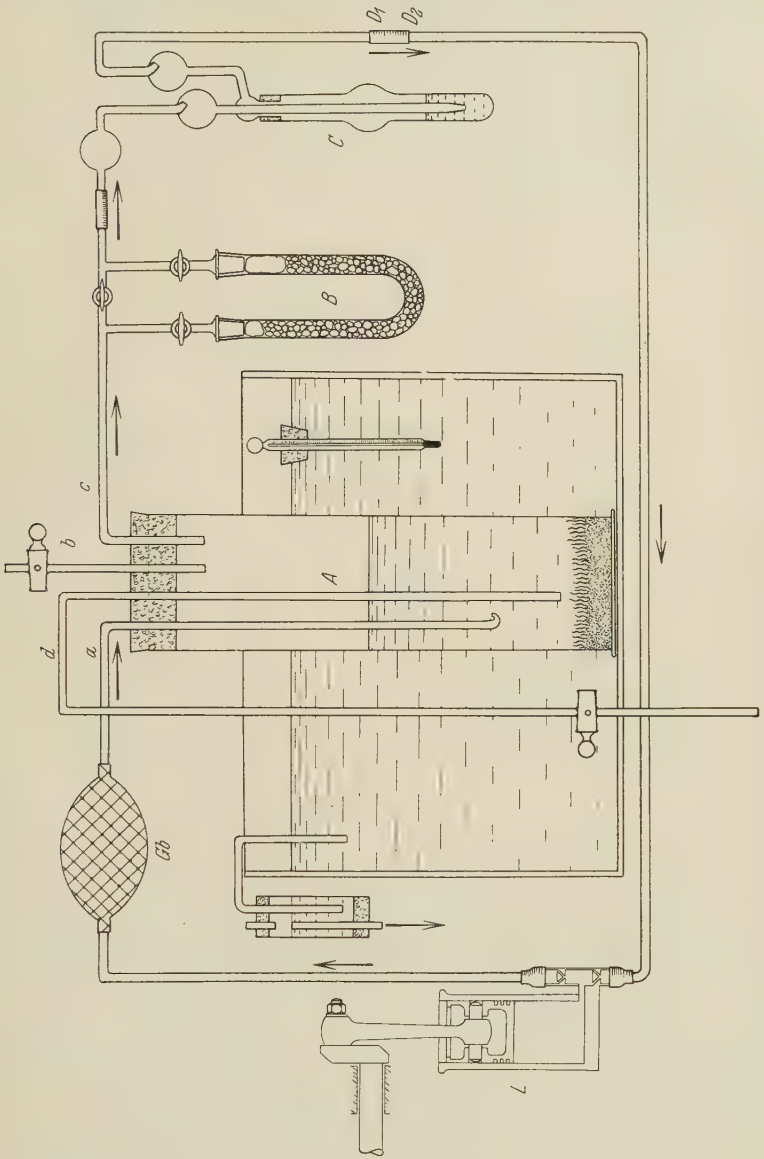

Abb. 5. Apparatur zur Bestimmung der Kohlendioxydproduktion (abgeändert nach OSTERHOUT 1918). Erklärung im Text.

Wasser besitzt. Da letzteres gasgesättigt ist, ist keine größere Diffusion zu befürchten. So kann man zweimal (vor und nach dem Versuch) Sauerstoffproben entnehmen (150 ccm fassende WINKLER-Flaschen), ohne das Atemgefäß besonders groß wählen zu müssen.

das zur Absorption des in der Apparatur befindlichen Kohlendioxyds am Ende der Versuche dient, erwies sich für die vorliegenden Versuche als unnötig und war deshalb abmontierbar angebracht. Das Reagenzglas für die Indikatorflüssigkeit (*C*) ist aus Jenaer Glas und besitzt oberhalb der Flüssigkeit eine kugelige Erweiterung, die das Mitreißen von Flüssigkeit durch die hindurchströmenden Gasblasen verhindert. Demselben Zwecke dient eine Erweiterung des ableitenden Glasrohrs, ebenso ist das zuleitende Glasrohr zum Schutz gegen ein Zurücksteigen des Indikators erweitert. Als Indikatorflüssigkeit wird dasselbe Wasser benutzt wie im Versuchsgefäß; als Indikator diente bei vorliegenden Versuchen Phenolrot; die p_H-Bestimmungen wurden mit dem Doppelkeilapparat nach Bjerrum-Arrhenius ausgeführt[1].

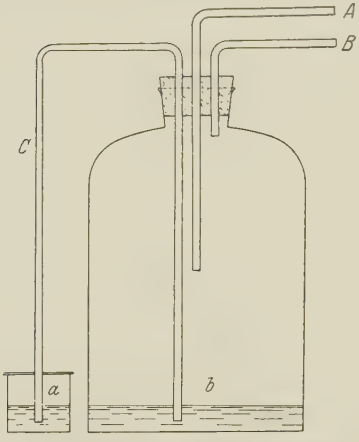

Abb. 6. Flasche mit Stickstoff-Sauerstoffgemisch zum Füllen der Apparatur Abb. 5. (Nähere Erklärung im Text.)

Der Boden des Atmungsgefäßes wurde mit einer 1,5 cm hohen Schicht ausgeglühten Sandes bedeckt. Nachdem die Würmer — untersucht wurden jeweils einige tausend Exemplare zwischen dem 3. und 5. Hungertag — in dieses Gefäß hineingebracht worden waren, wurde bis zum folgenden Tag frisches Leitungswasser hindurchgeleitet. Vor Beginn eines Versuches wurde zunächst etwa $^1/_2$ Stunde lang frische Luft durch die Apparatur in das Atemgefäß geleitet, indem bei D_1D_2 die Verbindung unterbrochen wurde; nachdem dann durch *d* Wasser für eine O_2-Analyse entnommen war, konnte der eigentliche Versuch beginnen. Untersucht wurde die Zeitdauer für die Farbänderung von p_H 8,10 auf 7,65. Nach Beendigung des Versuchs wurde Wasser für eine zweite O_2-Analyse entnommen. Nach $1^1/_2$—2stündiger Erholungszeit, während der dauernd frisches Wasser durch das Atemgefäß geleitet wurde, konnte dann der nächste Versuch beginnen, nachdem zuvor noch das p_H der Indikatorflüssigkeit durch Einleiten von Luft auf den früheren Stand (etwa 8,2 bis 8,3) zurückgebracht worden war. — Sollte im sauerstoffarmen Wasser untersucht werden, so wurde 20 Min. vor Versuchsbeginn bei D_1D_2 eine größere Flasche zwischengeschaltet, die ein N_2-O_2-Gemisch enthielt.

Die hierzu verwendete 10 Literflasche (Abb. 6) besaß einen dreifach durchbohrten Gummistopfen mit den Rohren *A* und *B*, die an D_1 und D_2 angeschlossen wurden, und dem Rohr *C*. Letzteres diente dazu, aus dem Gefäß *a* Wasser nachzuziehen, wenn während der Entnahme von Wasser aus dem Atemgefäß für die

[1] Bezogen von der Firma F. & M. Lautenschläger (München).

erste O_2-Analyse der Druck innerhalb der Apparatur geringer wurde; in *a* wurde dann Wasser nachgefüllt, bis in *a* und *b* der Wasserstand gleich war. Dann konnte die Verbindung des Apparates mit der 10 Literflasche aufgehoben werden und der Versuch beginnen. Der Stickstoff, der zur Herstellung der Stickstoff-Luftgemische diente, wurde einer Bombe entnommen, enthielt aber immerhin etwa 1% O_2; es ließ sich infolgedessen damit nur Wasser bis zu einem Sauerstoffgehalt von 0,27 ccm pro Liter abwärts herstellen. Da bei meinen Experimenten noch bei geringerem Sauerstoffgehalt untersucht werden mußte, wurde versucht, reinen Stickstoff aus Ammoniumnitrit herzustellen, jedoch selbst bei gründlichem Waschen mit Chromschwefelsäure blieb ein schwacher Geruch nach Stickoxyden vorhanden. Deshalb wurde anders verfahren: Der Stickstoff der Bombe wurde in

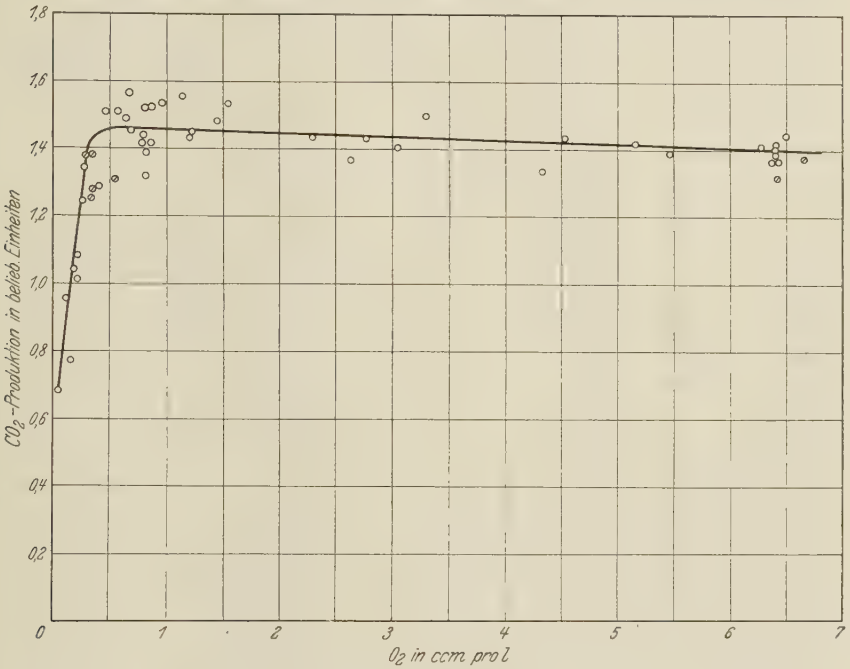

Abb. 7. Kurve der Kohlendioxydproduktion von *Tubifex* bei verschiedenen Sauerstoffspannungen.

ganz kleinen Blasen (Zerteiler) durch eine hohe Schicht alkalischer Pyrogallollösung gepreßt, und dann mit Wasser gewaschen. Auf diesem Wege resultierte fast völlig sauerstofffreier (weniger als 0,1% O_2 enthaltender) Stickstoff.

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 3 und in Abb. 7 dargestellt worden. Bestimmt wurde bei jedem Versuch: die Temperatur, der Sauerstoffgehalt im Atmungsgefäß zu Beginn und zu Ende der Versuche (in Kubikzentimeter pro Liter) und die Zeitdauer für eine p_H-Änderung von 8,10 auf 7,65. Damit die verschiedenen Ergebnisse miteinander in Beziehung gebracht werden konnte, wurde schließlich das Trockengewicht der Tiere am Ende jeder Versuchsserie festgestellt. Die Atmungsintensität (A_J) wurde dann in beliebigen Einheiten als $A_J = \frac{100}{m \cdot t_{p_H}}$

errechnet, wobei m das Trockengewicht, $t\,p_H$ die Größe der Zeitdauer für die p_H-Änderung bedeutet. Die Versuchstiere verhielten sich während aller Untersuchungen normal und bewegten sich wenig oder gar nicht, wenn man von den rhythmischen Bewegungen der Hinterenden absieht.

Tabelle 3.

O_2 vorher — O_2 nachher (ccm pro l)	Mittelwert	Temperatur	Zeitdauer der p_H-Änderung V. 8,1 — 7,65	Maximale Ablesefehler	Trokkengewicht	$A_J = \frac{100}{m \cdot t\,p_H}$	Bemerkungen
6,56 – 6,29	6,43	17,9	42	± 2	1,742	1,367	Hinterenden 3 mm
4,36 – 4,30	4,33	18,0	43	± 2		1,335	
6,48 – 6,28	6,38	17,8	42	± 2		1,367	
2,62 – ?	2,62	18,0	42	± 2		1,367	
2,33 – 2,24	2,29	17,8	40	± 2		1,435	
1,65 – 1,43	1,54	17,9	37,5	± 2		1,531	
1,28 – 1,11	1,20	17,7	40	± 2		1,435	Hinterenden 9 mm
1,00 – 0,91	0,95	17,7	37,5	± 2		1,531	Hinterenden 10 mm
6,52 – 6,30	6,41	17,7	48	± 2	1,483	1,405	Hinterenden 3 mm
1,26 – 1,18	1,22	17,8	46,5	± 2		1,450	Hinterenden 9 mm
3,29 – ?	3,29	17,8	45	± 2		1,498	
4,66 – 4,40	4,53	18,0	47	± 2		1,435	
3,10 – 2,98	3,04	17,8	48	± 2		1,405	
5,30 – 5,02	5,16	17,9	47,5	± 2		1,419	
2,83 – 2,69	2,76	17,8	47	± 2		1,435	
6,50 – ?	6,50	17,9	44	± 2	1,578	1,440	
0,77 – 0,59	0,68	18,0	43,5	± 2		1,457	
0,64 – 0,62	0,63	17,9	42,5	± 2		1,491	
0,61 – 0,53	0,57	18,1	42	± 2		1,509	
0,70 – 0,89	0,80	17,9	44	± 2		1,440	
0,59 – 0,73	0,66	18,0	40,5	± 2		1,565	
5,55 – 5,38	5,46	17,9	29,5	± 1,5	2,433	1,393	
1,57 – 1,32	1,44	18,0	28,5	± 1,5		1,485	
6,40 – ?	6,40	17,9	29,5	± 1,5		1,393	
6,56 – 6,26	6,41	17,8	28,5	± 1,5	2,480	1,415	
1,36 – 1,23	1,30	17,9	22	± 1,0		1,833	?
? – 1,13	1,13	18,1	26	± 1,5		1,551	
0,87 – 0,82	0,85	18,0	28,5	± 1,5		1,415	
0,84 – 0,79	0,81	18,0	29	± 1,5		1,390	
0,90 – 0,80	0,85	18,0	26,5	± 1,5		1,522	
0,84 – 0,79	0,81	18,1	28,5	± 1,5		1,415	
0,83 – 0,79	0,81	17,9	30,5	± 1,5		1,321	
0,80 – 0,77	0,78	18,0	28,5	± 1,5		1,415	
0,87 – 0,79	0,83	18,0	26,5	± 1,5		1,522	

Tabelle 3 (Fortsetzung).

O_2 vorher — O_2 nachher (ccm pro l)	Mittelwert	Temperatur	Zeitdauer der p_H-Änderung von 8,1 — 7,65	Maximale Ablesefehler	Trokkengewicht	$A_J = \frac{100}{m \cdot t p_H}$	Bemerkungen
0,57 – 0,52	0,54	18,0	47,3	± 2	1,629	1,311	Ausnahmsweise 14-tägige Hungerzeit, daher der niedrige Wert für $A_J = \frac{100}{m \cdot t p_H}$
0,32 – 0,38	0,35	18,0	48	± 2		1,279	
6,54 – 6,29	6,42	18,0	46,5	± 2		1,320	
0,33 – 0,32	0,32	17,8	49	± 2		1,253	
0,32 – 0,29	0,30	18,0	44,5	± 2		1,379	
6,78 – 6,56	6,67	18,1	44,7	± 2		1,373	
0,34 – 0,32	0,33	18,0	44,3	± 2		1,385	
0,49 – 0,44	0,46	18,0	27,5	± 1,5	2,407	1,511	
0,42 – 0,38	0,40	18,1	32,3	± 1,5		1,290	
6,35 – 6,20	6,28	18,0	29,5	± 1,5		1,408	
0,28 – 0,26	0,27	17,9	31	± 1,5		1,340	
0,28 – 0,25	0,27	18,0	33,5	± 1,5		1,240	
0,23 – 0,20	0,21	18,1	38,5	± 2		1,079	
0,13 – 0,10	0,11	17,9	43,5	± 2		0,955	
0,08 – 0,06	0,07	18,0	61	± 3		0,681	
0,19 – 1,19	0,19	18,0	40	± 2		1,038	
0,22 – 0,20	0,21	18,0	41	± 2		1,013	
0,14 – 0,18	0,16	18,1	45	± 2		0,769	
0,08 – 0,06	0,07	18,1	61	± 3		0,681	

Im allgemeinen waren die Vorderenden in den Sand eingebohrt, nur bei niedriger Sauerstoffspannung verließen die Tiere teilweise vor (!) Versuchsbeginn den Sand und lagen dann während des Versuchs zusammengeknäuelt auf dem Sand, ohne dabei jedoch größere Ortsbewegungen zu vollführen. Allerdings wurde mit fallendem Sauerstoffdruck die Rhythmik des Hinterendes heftiger (vgl. ALSTERBERG 1922), aber man darf die dadurch bedingte Erhöhung der Arbeitsleistung nicht allzu hoch veranschlagen; aus dem Verlauf der Kohlendioxydkurve läßt sich vermuten, daß durch diese Arbeitssteigerung die Kohlendioxydproduktion bei niederer Sauerstoffspannung nur um etwa 5% vergrößert wird. — Die erhaltene Kurve (Abb. 7) zeigt deutlich, daß die Kohlendioxydausscheidung in sehr weiten Grenzen unabhängig vom Sauerstoffdruck ist; bis zu einem O_2-Gehalt von 0,4 ccm pro Liter ist nur eine leichte Steigerung der Kohlendioxydproduktion um etwa 5% zu bemerken, über deren Zustandekommen schon eine Vermutung geäußert wurde; dann setzt allerdings ein sehr rapider Abfall der Kohlendioxydproduktion bis auf die Hälfte der normalen bei völligem Sauerstoffmangel ein. Ein gänzliches Aussetzen der Kohlendioxydproduktion ist ja auch nicht zu erwarten,

da bei der Anoxybiose CO_2 gebildet oder doch frei wird (vgl. unten). Jedenfalls ist die ja auch bei verschiedenen anderen Tieren gefundene weitgehende Konstanz der Kohlendioxydproduktion sehr interessant; sie weist auf eine gewisse Konstanz des respiratorischen Gesamtstoffwechsels hin, die nur bei ganz niedrigem Sauerstoffdruck nicht gewahrt bleibt.

Aufschlußreich ist ein Vergleich der erhaltenen Ergebnisse mit einigen Resultaten Alsterbergs (1922, Tabelle 3). Zwar handelt es sich hierbei um zwei verschiedene Tierarten (*Tubifex* und *Limnodrilus*), aber diese sind doch sehr nahe miteinander verwandt und leben außerdem unter denselben Bedingungen, so daß ein Vergleich wohl erlaubt ist. Nach Alsterberg steigt die Frequenz der Rhythmik des Hinterendes von *Limnodrilus* bei Herabsetzung des Sauerstoffgehaltes im Außenmedium bis etwa 0,3 ccm O_2 pro Liter, um bei weiter abnehmendem Sauerstoffgehalt jedoch plötzlich stark abzunehmen. Es tritt an diesem Punkt also entweder eine Lähmung der Würmer ein (vielleicht durch Anhäufung schädlicher Stoffwechselprodukte bedingt) oder — was wohl wahrscheinlicher ist und sich aus der Form der Kohlendioxydkurve vermuten läßt — der Energiebedarf der Tiere kann nicht mehr voll gedeckt werden, und die Bewegungen des Hinterendes müssen deshalb verlangsamt und schließlich eingestellt werden.

Eine wichtige Frage ist noch die nach der Herkunft des CO_2 während der Anoxybiose. Es gibt hierüber zwei Meinungen, die noch heute beide vertreten werden: nach der Annahme Weinlands, welcher vermutet, daß Gärungen die Energielieferanten bei der Anoxybiose der Würmer sind, wird bei den anoxydativen Prozessen Kohlendioxyd gebildet, nach der Anschauung Slaters und anderer hingegen wird anoxybiotisch Glykogen in Milchsäure übergeführt, aber kein CO_2 frei; vielmehr soll wie bei Wirbeltieren das in der Blutflüssigkeit chemisch gebundene Kohlendioxyd durch die Milchsäure ausgetrieben und dann ausgeschieden werden. Einer Stellungnahme zu diesen Hypothesen enthalte ich mich an dieser Stelle, doch möchte ich hier schon darauf hinweisen, daß ich bei der Besprechung der anoxydativen Umsetzungen auf dieses Problem nochmals ausführlich zurückkomme.

3. Der respiratorische Quotient bei verschiedenen Sauerstoffspannungen.

Bisher habe ich Kohlendioxydproduktion und Sauerstoffverbrauch unabhängig voneinander betrachtet, es ist aber von ebenso großer Bedeutung, die Beziehung dieser Größen zueinander, also die Werte des respiratorischen Quotienten $\left(RQ = \frac{CO_2}{O_2}\right)$ zu kennen. Normalerweise steigt der RQ bei genügender Sauerstoffversorgung des Organismus nicht über 1; bei positivem Sauerstoffdruck in den Geweben ist ein höherer RQ nur in Ausnahmefällen beobachtet worden, z. B. bei der Bildung von Fetten bei reiner Kohlehydratfütterung beim Mästen der Gans (RQ bis 1,38) oder bei plötzlicher angestrengter Muskelarbeit nach vorhergehender Ruhe (RQ = 1,19, Krogh und Lindhard zit. nach Jordan 1929,

S. 280). In dem zuletzt genannten Falle wird durch die gebildete Milchsäure das Kohlendioxyd aus seinen Verbindungen im Blut ausgetrieben und also die Kohlendioxydproduktion nur scheinbar verstärkt. Abgesehen von solchen abnormen Fällen jedoch bleibt der RQ stets unter 1, solange Sauerstoff im Überschuß vorhanden ist. Ein RQ über 1 gibt im Normalfall stets die Existenz anoxybiotischer Prozesse zu erkennen; von der Größe des RQ kann man auf die Intensität dieser anoxydativen Umsetzungen schließen: es findet sich ein um so größerer RQ, je größer der Sauerstoffmangel ist, je größer also der Anteil der anoxybiotischen Prozesse im Gesamtumsatze wird. So findet z. B. Konopacki (1907) beim Regenwurm in verdünnter Luft (21 mm Hg) einen RQ von 2,7, in normaler Luft hingegen einen solchen von 0,7—0,8. Noch deutlicher zeigen die Untersuchungen Henzes (1910) an *Sipunculus* das Ansteigen des RQ bei abnehmender Sauerstoffspannung, deshalb mögen hier die aus Henzes Angaben berechneten RQ wiedergegeben sein (Tabelle 4).

Tabelle 4.

O_2-Gehalt (ccm pro l)	RQ	O_2-Gehalt (ccm pro l)	RQ
11,46	0,69	5,17	1,45
8,80	1,03	1,36	3,4
5,55	1,06	1,13	8,6
5,47	1,51	0,81	10,0
5,41	1,48		

Ähnliche Werte liegen für *Limax* vor (bei 21% O_2 beträgt der RQ 0,94, bei $10^1/_2$% $O_2 = 1{,}04$, bei $5^1/_4$% $O_2 = 1{,}55$, zit. nach v. Buddenbrock 1928). Selbst bei Wirbeltieren und Insekten, also bei Tieren mit hoher Sauerstoffspannung in den Geweben, steigt der RQ mit fallendem Sauerstoffdruck im Atemmedium (vgl. v. Buddenbrock 1928, S. 299, ferner Harnisch 1930). Auch bei normalem Sauerstoffdruck sind respiratorische Quotienten von über 1 verschiedentlich gefunden worden; so gibt Pütter den RQ von *Suberites* zu 2,9 von *Cucumaria* zu 3,7—3,8, von *Helix* zu 0,95—1,6 an; Schäperclaus (1925) erhielt als RQ von *Tubifex* 1,192.

Nach meinen bisher mitgeteilten Versuchen ist die Bestimmung der respiratorischen Quotienten von *Tubifex* insofern einfach, als nur ein einziger Wert festgestellt werden muß, dann kann mittels der Sauerstoff- und Kohlendioxydkurve der RQ für jeden beliebigen Sauerstoffdruck errechnet werden.

Zur Untersuchung des RQ wurde wiederum der in Abb. 1 angegebene Apparat benutzt, nur wurde bei den Winkler-Analysen zwischen Atemgefäß und Winkler-Flasche ein Tropftrichter von bekanntem Inhalt und der in Abb. 8 wiedergegebenen Form angebracht. Nachdem das

Versuchswasser den Tropftrichter etwa 5mal, die WINKLERsche Flasche also 3—4mal durchströmt hatte, wurde der Inhalt des Tropftrichters nach WARBURG (1909, daselbst die genaue Apparatur) auf den CO_2-Gehalt untersucht[1]. Die gefundenen CO_2- und O_2-Werte brauchten nur auf Kubikzentimeter pro Liter umgerechnet zu werden, da Tiermenge, Temperatur und Volumen des Atmungsgefäßes bei beiden Bestimmungen die gleichen waren. Das Verhältnis $\frac{CO_2 \text{ in ccm pro l}}{O_2 \text{ in ccm pro l}}$ stellt also den RQ dar. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 5 wiedergegeben. Danach liegt der RQ bei normalem Sauerstoffdruck (6 ccm pro Liter) schon bei 1,32 (Mittel von 4 Werten; der Wert 1,51 blieb unberücksichtigt, da bei den hohen CO_2-Werten ein Fehler möglich ist, vgl. WARBURG 1909), also bedeutend über 1. Es ist von Interesse, daß SCHÄPERCLAUS (1925) den RQ von *Tubifex* zu 1,192 angibt, also einen Wert findet, der dem von mir bestimmten nahe kommt.

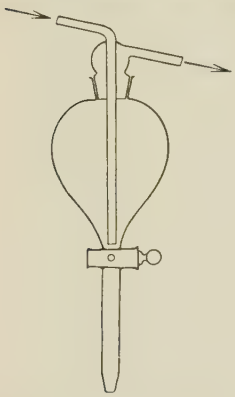

Abb. 8. Tropftrichter für Kohlendioxydbestimmungen nach WARBURG, vgl. Text.

Tabelle 5.

Zeit	Temperatur	O_2 vorher — O_2 nachher (ccm pro l)	O_2-Mittel	O_2-Differenz	CO_2 vorher — CO_2 nachher (ccm pro l)	CO_2-Differenz	RQ
50,5	18,9	6,580 – 5,721	6,151	0,859	0,04 – 1,07	1,03	1,20
50,5	18,9	6,202 – 5,338	5,771	0,866	1,73 – 3,06	1,33	1,51
50,5	19,1	6,324 – 5,539	5,931	0,785	0,85 – 1,87	1,02	1,29
50,5	19,0	6,428 – 5,666	6,047	0,762	1,01 – 2,08	1,08	1,43
50,5	19,2	6,377 – 5,584	5,981	0,793	1,05 – 2,13	1,08	1,36
50,5	18,8	3,178 – 2,637	2,907	0,541	0,35 – 1,41	1,06	1,94
50,5	19,1	0,786 – 0,500	0,643	0,286	0,28 – 1,59	1,31	4,48
50,5	19,0	1,470 – 1,030	1,250	0,440	0,21 – 1,67	1,46	3,32

Auf Grund des RQ von 1,32 bei 6 ccm O_2 pro Liter und der O_2- und CO_2-Werte, die sich aus den O_2- und CO_2-Kurven ergeben, lassen sich die RQ für sämtliche Sauerstoffspannungen ohne weiteres berechnen; sie sind als Kurve in Abb. 9 dargestellt worden. Man erkennt, daß die berechneten RQ mit den direkt bestimmten (in Abb. 9 durch Kreise markierten) einigermaßen übereinstimmen.

[1] Der Titer der $Ba(OH)_2$-Lösung betrug zu Anfang der Versuchsserie

$$1{,}1788 \cdot \frac{n}{100}, \text{ zu Ende } 1{,}1779 \cdot \frac{n}{100};$$

die Höhe der absorbierenden Flüssigkeit wurde größer gewählt als im WARBURGschen Apparat (50—55 mm).

Der hohe Wert des RQ bei normalem Sauerstoffdruck (1,32) entspricht den Erwartungen. Aus dem dauernden Ansteigen des Sauerstoffverbrauchs mit wachsender Sauerstoffspannung im Außenmedium folgt nach der Krogh'schen Hypothese (siehe S. 562) mit Notwendigkeit die Anwesenheit anoxydativer Prozesse selbst bei normalem Sauerstoffdruck. Umgekehrt liefert die Tatsache, daß der RQ größer als 1 ist, einen Beweis für die Richtigkeit der von Krogh vertretenen Ansicht, daß

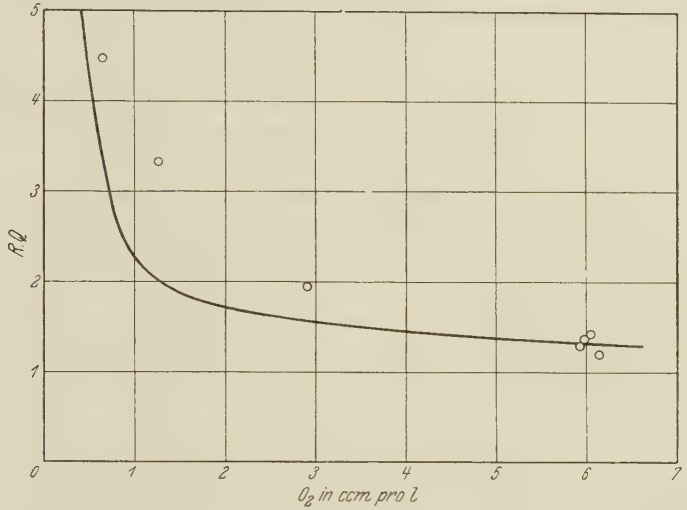

Abb. 9. Kurve des respiratorischen Quotienten von *Tubifex* bei verschiedenen Sauerstoffspannungen. o = experimentell bestimmte Werte. Die ausgezogene Kurve ist auf Grund der Kurven des Sauerstoffverbrauchs (Abb. 2) und der Kohlendioxydproduktion (Abb. 7) berechnet (vgl. Text).

wachsender Sauerstoffverbrauch bei zunehmendem Sauerstoffdruck im Atemmedium nur dann vorhanden ist, wenn die Sauerstoffspannung in mehr oder minder großen Partien der Gewebe Null ist. Wenn der äußere Sauerstoffdruck sinkt, so wird ein geringerer Teil der Gewebe mit Sauerstoff versorgt werden können, was sich natürlich in einer Steigerung der anoxydativen Prozesse und damit des RQ bemerkbar machen muß. Ein solches Zunehmen des RQ bei fallendem Sauerstoffdruck geht in der Tat deutlich aus der Kurve Abb. 9 hervor. Außerdem kann man aus dieser Kurve auch auf den Anteil der anoxybiotischen Prozesse am Gesamtumsatz schließen; man erkennt, daß die anoxydativen Umsetzungen in gleichem Maße zunehmen, wie der Sauerstoffverbrauch abnimmt. Für diese Schlußfolgerung werde ich später bei der Untersuchung des anoxydativen Stoffwechsels noch weitere Unterlagen liefern (siehe S. 592 f.).

II. Der anoxybiotische Stoffwechsel.

Im Laufe meiner Darstellung ist verschiedentlich die Rede auf die anoxydativen Umsetzungen gekommen, ohne daß dieselben jedoch in

ihrer Wirkungsweise näher beschrieben worden wären. Wenn man dem Wesen der anoxydativen Prozesse näherkommen will, bleibt kein anderer Weg, als den Stoffwechsel der Tiere in der Oxybiose und in der Anoxybiose zu untersuchen und beide Arten des Stoffwechsels miteinander zu vergleichen. Diese Art der Methodik ist zuerst von Weinland (1901) in seinen bekannten Arbeiten über *Ascaris lumbricoides* angewandt worden. Hier vereinfachte sich die Untersuchung allerdings wesentlich dadurch, daß nur die anoxydative Phase des Stoffwechsels berücksichtigt zu werden brauchte, da die Spulwürmer unter biologischen Verhältnissen stets ohne Sauerstoff zu leben gezwungen sind. Weinland fand, daß nur Kohlehydrate (besonders Glykogen) während der Anoxybiose verbraucht werden, während Eiweiße und Fette nur in ganz geringfügigem Maße am Stoffumsatz teilnehmen. Aus Lessers Untersuchungen am Regenwurm (1908, 1910) geht ebenfalls hervor, daß vor allem die Kohlehydrate bei Sauerstoffmangel an Menge abnehmen, während Eiweiße und Fette nicht oder doch nur ganz unbedeutend an den Stoffwechselprozessen beteiligt sind. Man kann sich also bei Untersuchungen über den anoxydativen Stoffwechsel auf die Bestimmung des Kohlehydratverbrauchs beschränken. Dieser letztere ist bei Anoxybiose wesentlich größer als bei Oxybiose; so fand Lesser (1910) bei Abwesenheit von Sauerstoff beim Regenwurm einen sechsfach erhöhten Glykogenverbrauch gegenüber dem normalen; auch bei Wirbeltieren hat man in der Anoxybiose eine 4—5fach gesteigerte Glykogenzersetzung nachweisen können (vgl. Meyerhof 1925 u. a.).

Damit aber ist die Frage nach dem Wesen der anoxydativen Umsetzungen noch nicht gelöst. Weinland (1901) hat als erster dieses Problem näher studiert, indem er nach den Endprodukten des anoxybiotischen Stoffwechsels suchte und dabei als solche Kohlendioxyd und Valeriansäure feststellte. Er nahm dann auf Grund quantitativer Messungen des Glykogenverbrauchs sowie der CO_2- und der Valeriansäureausscheidung einen Gärungsprozeß als Energielieferanten bei Anoxybiose an (siehe weiter unten S. 596). Lesser (1909) fand beim Regenwurm ebenfalls Valeriansäure als Stoffwechselprodukt und schloß sich der Gärungshypothese an, obgleich seine quantitativen Befunde der Weinlandschen Formel nicht entsprachen. Späterhin wurden bei verschiedenen Organismen noch andere Säuren als anoxydative Ausscheidungsstoffe angegeben: Weinland und v. Brand fanden z. B. bei *Fasciola hepatica* (1926) außer niederen besonders höhere Fettsäuren und bei *Moniezia expansa* (1929) Milchsäure, Bernsteinsäure sowie höhere Fettsäuren.

Durch die geschilderten Untersuchungen würde die Annahme der Energieproduktion durch Gärungen in der Anoxybiose ziemlich sichergestellt sein, wenn man nicht, wie dies besonders in neuerer Zeit geschieht,

diese Endprodukte auch auf bakterielle Wirkung zurückführen könnte, die nicht leicht auszuschalten ist, ohne die übrigen Funktionen des Organismus wesentlich zu verändern (vgl. Fischer 1924, Slater 1928). Slater geht dabei von den Verhältnissen bei höheren Tieren aus, bei denen nach Meyerhof (1925) die Glykolyse in der anoxydativen Phase der Muskelkontraktion eine wichtige Rolle spielt und versucht nachzuweisen, daß auch bei niederen Tieren aus Glykogen über Traubenzucker Milchsäure gebildet wird, die während der Oxybiose teils oxydiert, größerenteils aber zu Glykogen restituiert wird, anoxydativ sich hingegen in den Geweben anhäuft.

Es stehen sich also zwei Meinungen gegenüber, deren Klärung jedoch vorläufig noch auf experimentelle Schwierigkeiten stößt. Der einen Ansicht zufolge setzt bei Anoxybiose ein Gärungsprozeß ein, bei dem unter Kohlendioxydabgabe ein Endprodukt (Valeriansäure) gebildet wird, das als solches ausgeschieden wird. Die neuere Anschauung hingegen versucht, die Homologie der anoxydativen Prozesse bei Wirbellosen und Wirbeltieren nachzuweisen, indem sie die gefundenen Endprodukte des Stoffwechsels wie Valeriansäure auf bakterielle Veränderung der Exkrete zurückzuführen versucht. Die letztere Annahme erscheint darum so plausibel, weil die Glykogenumsetzungen oxybiotisch und anoxybiotisch bei niederen Tieren mit denen der Glykolyse der höheren Tiere weitgehend übereinstimmen, jedoch ist sie noch zu wenig durch exakte Experimente gestützt, als daß sie als bewiesen gelten könnte. Andererseits sind bei dem Studium der Anoxybiose wichtige Tatsachen festgestellt worden, die gegen das Vorhandensein einer Glykolyse zu sprechen scheinen; es wird also meine Aufgabe sein, durch eindeutige Experimente die Richtigkeit einer der beiden Hypotheseu zu beweisen. Es ist weiterhin bisher stets nur der Glykogenverbrauch bei reiner Oxybiose und reiner Anoxybiose untersucht worden, man hat die Verhältnisse bei partieller Anoxybiose stets unberücksichtigt gelassen. Es wird deshalb insbesondere auch meine Aufgabe sein, den Glykogenverbrauch von *Tubifex* bei variierten Sauerstoffspannungen zu untersuchen und damit Schlüsse auf die Intensität der anoxybiotischen Partiarprozesse in ihrer Abhängigkeit vom Sauerstoffdruck und in ihrer Beziehung zu den oxybiotischen Partiarprozessen zu ziehen.

1. Die anoxybiotische Lebensdauer.

Zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit der anoxybiotischen Prozesse eines Tieres ist es von Bedeutung, seine Widerstandsfähigkeit gegen Sauerstoffentzug, also seine anoxybiotische Lebensdauer zu kennen. Versuche in dieser Richtung sind an den mannigfachsten Tierarten ausgeführt worden; bekannt sind vor allem die Experimente Pflügers (1875) an Fröschen, die nach 25stündigem vollkommenen Sauerstoffmangel

noch lebten. Aubert (1881) wies einige Jahre darauf sogar nach, daß diese Zahl noch übertroffen werden kann, da er Frösche bei niedriger Temperatur mehrere Tage lang in sauerstofffreien Medien am Leben erhielt. Später zeigte Bunge (1883, 1888, 1890), daß verschiedene schlammbewohnende Würmer (*Hirudineen*, *Lumbriculiden*) eine große Widerstandsfähigkeit gegen Sauerstoffmangel aufweisen (Lebensdauer 2—6 Tage), während *Ascariden* normalerweise sogar dauernd anoxybiotisch leben; im Experiment starben sie allerdings schon nach 7 Tagen. Anscheinend vermögen überhaupt Tiere in der Natur länger anoxybiotisch zu leben als im Experiment, möglich, daß dies der unter natürlichen Verhältnissen allmählich vor sich gehenden Anpassung an den Sauerstoffmangel zuzuschreiben ist oder einem andersartigen Reservestoffaufbau oder einer Ergänzung der Reservestoffe durch Nahrungsaufnahme, die im Experiment meist unmöglich ist, vielleicht auch der Vergiftung durch Stoffwechselendprodukte, die während der Untersuchungen angehäuft werden — jedenfalls fand z. B. Juday (1909) am Boden des Mendotasees in Wisconsin nach 3monatiger völliger Abwesenheit von Sauerstoff eine Menge Tiere, die unter experimentellen Bedingungen weit weniger große Widerstandsfähigkeit zeigen, z. B. *Chironomus*-Larven, die nach Pause (1919) nur 54, nach Alsterberg (1922) 80 Stunden Sauerstoffentzug auszuhalten vermögen. Exemplare, die schon einige Zeit am Boden des Mendotasees anoxybiotisch gelebt hatten, vermochte Cole (1921) hingegen 3 Wochen, in einem Falle sogar 50 Tage lang ohne Sauerstoff lebend zu erhalten. — Nach Pütter (1905) ist die Widerstandsfähigkeit von Protozoen gegen Sauerstoffmangel, besonders wenn sie Reservestoffe gespeichert oder Nahrung zur Verfügung haben, recht groß; *Paramäcien* lebten ohne Nahrung 10 Tage, *Nyctotherus* bei Bakterienernährung über 50 Tage ohne Sauerstoff. — Auch Muscheln besitzen hochgradige Befähigung zur anoxybiotischen Lebensweise, *Mya arenaria* vermag nach Cole (1921) bei 14° C 8 Tage, bei 8° C einige Wochen lang ohne Sauerstoff zu existieren. — Über die Widerstandsfähigkeit der *Tubificiden* liegen Experimente von Alsterberg (1922) an *Tubifex* vor, in denen die anoxybiotische Lebensdauer dieser Würmer bei 15—16° C zu etwa 13 Tagen (bei 1 Exemplar zu 25 Tagen) gefunden wurde.

Manche der hier erwähnten Arbeiten sind später scharf kritisiert worden (z. B. diejenige von Bunge durch Alsterberg 1922 und Slater 1928); in der Tat ist es von der größten Bedeutung, bei derartigen Untersuchungen vollkommen sauerstofffreies Wasser zu verwenden, das absolut sicher gegen die atmosphärische Luft abgeschlossen ist. Einfaches Auskochen des Wassers genügt nicht, es bleiben dabei meist nicht unwesentliche Sauerstoffmengen zurück oder lösen sich doch während der Abkühlung. Vermittels Durchleitens von Stickstoff aus einer Bombe

läßt sich ebenfalls kein sauerstofffreies Wasser herstellen, da dieser Stickstoff stets sauerstoffhaltig ist. Bei meinen Experimenten verfuhr ich deshalb so, daß ich Stickstoff in einer Apparatur zirkulieren ließ (Abb. 10); diese bestand aus einer 10 l-Flasche (*A*), die mit möglichst sauerstofffreiem Wasser gefüllt war, und zwei Waschflaschen (*B*, *C*) mit alkalischer Pyrogallollösung. Die Pyrogallollösung absorbierte innerhalb kurzer Zeit den gesamten noch vorhandenen Sauerstoff, nach 2 Stunden betrug der Sauerstoffgehalt des Wassers weniger als 0,03 ccm pro Liter. Dieses Wasser wurde unter Vorsichtsmaßregeln[1] in 250 ccm-Flaschen übergefüllt, deren Boden mit Sand bedeckt war. Danach wur-

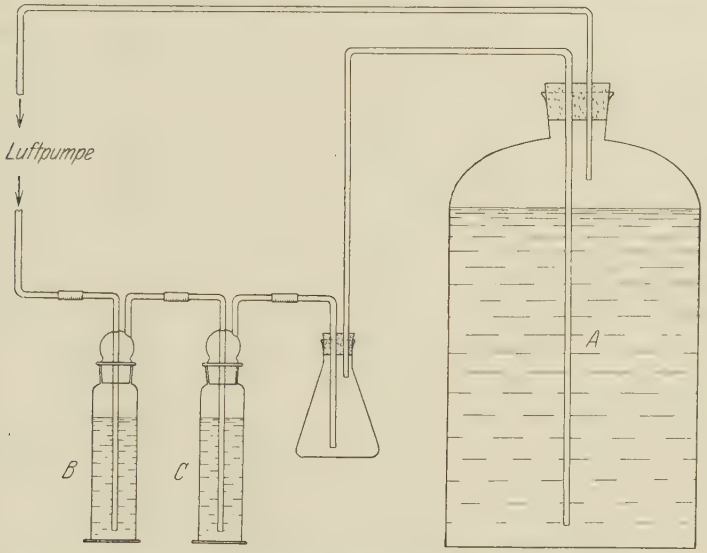

Abb. 10. Apparatur zur Herstellung sauerstofffreien Wassers. Erklärung im Text.

den je 50 Tiere aus sauerstofffreiem Wasser in die Versuchsgefäße gebracht und diese mit Glasstopfen derart verschlossen, daß keine Luftblasen zurückblieben. Die Würmer stellten in kurzer Zeit jegliche rhythmischen Bewegungen ihrer Hinterenden ein, wie es nach Alsterberg für Asphyxie typisch ist.

Die Versuchsgefäße wurden teils im Eisschrank bei 0 bis + 2° C, teils bei Zimmertemperatur (+ 18 bis 20° C) aufbewahrt. Nach gewissen Zeiträumen wurde von beiden Versuchsserien je 1 Flasche geöffnet, und die überlebenden Tiere wurden gezählt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 6 dargestellt. Es fällt auf, in wie hohem Maße die Lebensdauer von der Temperatur abhängig ist; diese Erscheinung erklärt sich

[1] Stets Stickstoff über den Flüssigkeiten; die zu füllenden Flaschen waren mit Stickstoff gefüllt; das in die 10 Literflasche bei der Entleerung nachströmende Gas bestand aus Stickstoff.

Tabelle 6.

Dauer der Anoxybiose in Tagen	Überlebende Tiere in % bei 0—2° C	bei 18—20° C
3,1	—	54
6,1	—	18
9,0	100	0
13,0	74	—
17,2	82	—
23,8	64	—
47,7	32	—

jedoch recht einfach dadurch, daß mit zunehmender Temperatur die Lebensprozesse sehr schnell an Intensität zunehmen, es werden also bei höherer Temperatur die Stoffe, die der Organismus zur Verfügung hat, in weitaus größerem Maße angegriffen und daher schneller aufgebraucht als bei niederer. Diese Tatsache ist zweifellos für die Tiere von großer Bedeutung während des Winters, wo sie sich in den Schlamm flacher Bäche und Teiche oft ganz zurückziehen müssen, wenn die Schlammoberfläche vereist. Die Tiere leben dann ganz anoxybiotisch und halten bei der herrschenden tiefen Temperatur diese Lebensweise zweifellos recht lange aus. Man bedenke hierzu, daß Juday (1909) bei immerhin hohen Temperaturen (6° C) am Boden des Mendotasees nach 3monatigem völligem Sauerstoffmangel noch *Tubificiden* fand, die keine Spur von Schädigung aufwiesen. Ich selbst habe während des Winters 1929/1930 mehrfach beobachtet, daß die Schlammoberfläche eines Baches gerade an den Stellen, die den *Tubificiden* als Aufenthaltsort dienten, vereiste; nachdem das Eis geschmolzen war, waren die *Tubificiden* sofort wieder erschienen und streckten ihre Hinterenden aus der Schlammoberfläche heraus. Leider jedoch waren die Perioden der Vereisung damals nie sehr groß (höchstens bis zu 3 Wochen), es ist aber wohl anzunehmen, daß auch bei längerer Vereisung wie sie in strengeren Wintern vorkommt, ein großer Teil der Tiere unter der Schlammoberfläche am Leben bleibt.

2. Die Abhängigkeit des Glykogenverbrauchs vom Sauerstoffdruck; Gesamtbild der energetischen Prozesse.

Es wurde schon darauf hingewiesen, daß bei vielen Tieren oxydative und anoxydative Glykogenumsetzungen von verschiedener Größenordnung sind, daß z. B. beim Regenwurm (Lesser 1910) anoxybiotisch etwa die 6fache Glykogenmenge verbraucht wird als bei Gegenwart von Sauerstoff. Man kann also diese Tatsache benutzen, um das Vorhandensein anoxydativer Prozesse nachzuweisen; ein Glykogenverbrauch, der zwischen oxybiotischem und anoxybiotischem liegt, zeigt dabei das Vorkommen oxydativer und anoxydativer Umsetzungen nebeneinander an;

je nach dem Überwiegen der anoxydativen oder oxydativen Prozesse wird der Glykogenverbrauch verschiedene Werte annehmen müssen, und man wird also durch Feststellung des Glykogenumsatzes bei verschiedenen Sauerstoffspannungen den Anteil der anoxydativen Prozesse am respiratorischen Gesamtstoffwechsel bestimmen können. Solche Untersuchungen liegen bisher nicht vor; überall wo ein allmählicher Übergang von Oxybiose zur Anoxybiose festgestellt wurde, geschah das auf Grund der Beobachtung einer Zunahme des RQ bei fallendem Sauerstoffdruck; die direkte Bestimmung der anoxydativen Umsetzungen liefert aber jedenfalls zuverlässigere Werte und bedeutet gleichzeitig eine Kontrolle der aus der Veränderung des RQ gezogenen Schlüsse.

Bei der Durchführung solcher Experimente, in denen die Abhängigkeit des Glykogenverbrauchs vom Sauerstoffdruck untersucht werden soll, ist es notwendig, daß

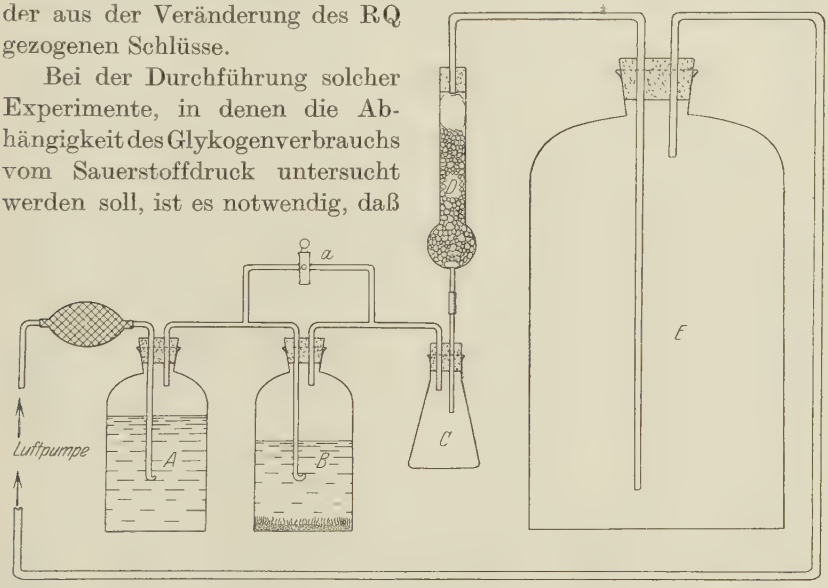

Abb. 11. Apparatur, mit deren Hilfe *Tubificiden* (in B) unter konstantem Sauerstoffdruck gehalten wurden. Erklärung im Text.

die Tiere während der ganzen Versuchsdauer einem konstanten Sauerstoffdruck ausgesetzt sind. Ferner muß der Glykogengehalt der Tiere vor und nach dem Versuch bestimmt werden. Letzteres wurde dadurch erreicht, daß eine größere Menge Würmer nach $3^1/_2$tägiger Hungerzeit zum Teil direkt auf Glykogen verarbeitet wurde, zum größeren Teil jedoch in mehreren Gruppen verschiedenen Sauerstoffspannungen unterworfen und dann erst auf ihren Glykogengehalt untersucht wurden.

Die Konstanz der Sauerstoffspannung wurde durch Zirkulation eines N_2—O_2-Gemisches in einer Apparatur erzielt, wie sie in Abb. 11 dargestellt ist. Der durch eine Luftpumpe angetriebene Gasstrom passiert dabei zunächst eine Waschflasche *A*, deren Wasser vor, während und nach dem Versuche zur Prüfung des Sauerstoffgehalts nach Winkler verwendet

werden kann; danach wird das Gas durch das Atemgefäß *B* geleitet, in dem sich Tiere, ausgeglühter grober Sand und Wasser befinden, dann gelangt das Gas durch das Natronkalkrohr *D* (zwecks Absorption der produzierten Kohlensäure) in die 25 l-Flasche *E*, um schließlich mittels der Luftpumpe zurück nach *A* geführt zu werden. Das Gefäß *C* stellt eine Schutzvorrichtung gegen Zurückfließen basischer Flüssigkeit aus *D* dar: die Nebenleitung *a* dient zur Regulierung der Stärke des Gasstroms in *B*. Das Wasser des Atemgefäßes hat stets den gleichen Gasdruck, wie er im Gefäß *E* herrscht; wenn dieses letztere also groß genug gewählt wird, nimmt der Sauerstoffpartiardruck selbst bei längerer Versuchsdauer kaum merklich ab. — Man kann in einer Versuchsserie mehrere derartige Apparaturen nebeneinander verwenden, bei Untersuchungen unter atmosphärischem Sauerstoffdruck erübrigt sich zudem die Apparatur, man braucht dann nur Luft durch das Atemgefäß zu leiten.

Auf Glykogen wurden die Tiere verarbeitet, indem die Gewebe mittels Natronlauge aufgelöst und das Glykogen mit Alkohol gefällt wurde. Das genauere Verfahren, im wesentlichen in Anlehnung an Pflüger (1903, 1906), war folgendes: Die Würmer werden völlig vom Sand befreit, auf 3—4mal gewechseltem Fließpapier getrocknet, gewogen und mit dem gleichen Volumen 60%iger reinster Natronlauge übergossen, Nach 2stündigem Erhitzen auf dem Wasserbad und anschließendem Abkühlen wird das Glykogen durch die doppelte Menge 96%igen Alkohols gefällt, und die Flüssigkeit am nächsten Morgen in einen Tropftrichter mit weiter oberer Öffnung abdekantiert und durch ein kleines unterhalb des Tropftrichters befindliches Filter filtriert. Der restliche Glykogenniederschlag wird inzwischen mit 66%igem Alkohol (mit etwas NaCl versetzt) geschüttelt, und nachdem die abdekantierte Flüssigkeit ganz durchs Filter gelaufen ist, wird der 66%ige Alkohol ebenso abdekantiert und filtriert. Dieses Verfahren wird noch zweimal mit 66%igem, einmal mit 96%igem, dreimal mit absolutem Alkohol, dreimal mit absolutem Äther und schließlich noch dreimal mit absolutem Alkohol wiederholt. Nachdem die letzte Flüssigkeit abfiltriert ist, gießt man in den Tropftrichter wenig heißes Wasser, welches Glykogenspuren löst, und läßt diese Flüssigkeit durchs Filter in das Gefäß mit der Hauptmenge des Glykogenniederschlags laufen. Darauf gibt man nochmals heißes Wasser in den Tropftrichter, läßt es durchs Filter in ein leeres Gefäß laufen usw., so daß außer dem Gefäß, das die Glykogenlösung enthält, insgesamt noch drei Gefäße mit Waschflüssigkeit vorhanden sind. Nun filtriert man durch ein reines Filter die Glykogenlösung in einen 100 ccm-Meßkolben, wäscht mit der ersten, danach mit der zweiten und dritten Waschflüssigkeit das Gefäß, welches die Glykogenlösung enthielt, aus und gibt sie jeweils durchs Filter in den Meßkolben. Auf diese Weise arbeitet man mit möglichst wenig Wasser und ohne Glykogenverluste. Im Meßkolben befindet sich das gesamte Glykogen, das mit 6 ccm 37%iger Salzsäure versetzt und 3 Stunden im Wasserbad hydrolysiert wird; der Traubenzuckergehalt wird dann nach Pflüger (1903) mittels Fehlingscher Lösung bestimmt. Man erhält so das Glykogen als Cu_2O.

Die hierbei erhaltenen Werte sind nicht auf Glykogen umgerechnet worden, da in diesem Zusammenhang die relativen Zahlen genügen; sie sind in Tabelle 7 und Abb. 12 wiedergegegeben worden. Aus der Kurve geht klar hervor, daß der Glykogenverbrauch der Tiere weitgehend von

Tabelle 7.

Gewicht der Tiere in g	O_2-Druck (ccm pro l)	Temperatur	Versuchsdauer in Stunden	Glykogengehalt als Cu_2O	Glykogengehalt pro g Tier als Cu_2O	% von ante	Glykogenverbrauch in % von ante
14,817	6,4	—	ante	0,5368	0,03623	—	—
14,764	6,4	19	31	4812	3259	89,95	10,1
16,551	0	19	31	3543	2141	59,09	40,9
15,162	6,4	19	55,5	4684	3089	85,26	14,7
16,605	0,7	19	55,5	2551	1536	42,39	57,6
16,114	6,4	—	ante	verloren	[0,03501][1]	—	—
11,748	6,4	20	31	0,3702	3151	90,00	10,0
14,849	1,1 – 1,3	20	31	3518	2369	67,67	32,3
14,406	2,6 – 2,7	20	31	4136	2871	82,00	18,0
11,135	0,2	20	31	2481	2228	63,64	36,4
14,213	6,4	—	ante	0,5448	0,03833	—	—
13,570	6,4	19	31	4727	3483	90,87	9,1
14,573	2,4 – 2,6	19	31	4979	3416	89,12	10,9
14,171	0,6	19	31	4218	2976	77,64	22,4
14,595	6,4	—	ante	0,5225	0,03580	Mittel: 0,03535	—
15,093	6,4	—	ante	5269	3491		—
12,964	6,4	19	31	4133	3189	89,15	10,8
13,287	1,1 – 1,15	19	31	3545	2667	75,45	24,6
10,020	0	19	31	2131	2127	60,17	39,8

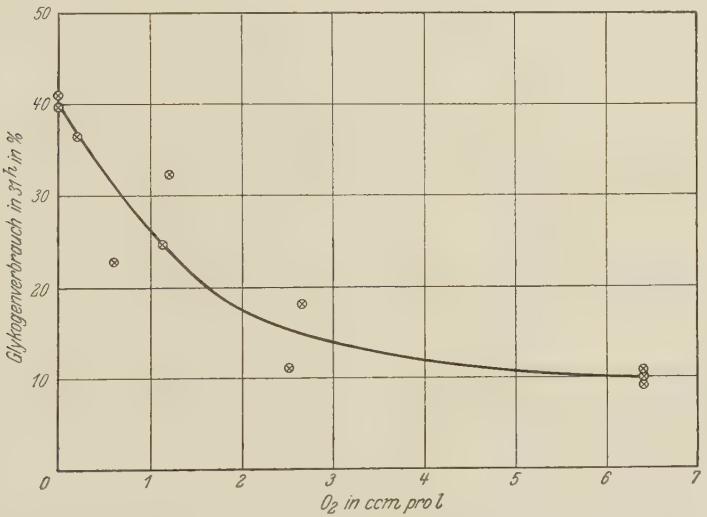

Abb. 12. Kurve des Glykogenverbrauchs von *Tubifex* bei verschiedenen Sauerstoffspannungen.

[1] Berechnet.

der Sauerstoffspannung abhängig ist. Bei absolutem Sauerstoffmangel wird etwa die 4fache Menge Glykogen zersetzt als bei normalem Sauerstoffgehalt der Luft. Allerdings finden auch in luftgesättigtem Wasser schon anoxydative Prozesse statt, wie die Untersuchung des RQ bei diesem Sauerstoffdruck zeigt (vgl. S. 584), so daß also der anoxybiotische Glykogenverbrauch mehr als das 4fache des oxybiotischen betragen muß, möglicherweise — in Analogie zu anderen Fällen (Regenwurm) — das 5—6fache. Aus einem Vergleich der hier erhaltenen Kurve mit der Sauerstoffkurve (Abb. 2, S. 569) geht hervor, daß die anoxydativen Prozesse in gleichem Maße zunehmen, wie der Sauerstoffverbrauch abnimmt. Entsprechend dem langsamen Fallen der O_2-Kurve bei hohem Sauerstoffgehalt steigt auch die Kurve des Glykogenverbrauchs im Bereiche hoher Sauerstoffspannung nur wenig an; bei niedrigem Sauerstoffdruck steigen bzw. fallen beide Kurven in bedeutend stärkerem Maße. Hier scheint das Prinzip, das die Stoffwechselprozesse beherrscht, in klarer Weise hervorzutreten: der Stoffumsatz ist nicht abhängig vom Sauerstoffdruck innerhalb der Gewebe, sondern von der Menge des gelieferten Enzyms oder des Brennstoffs, nur so erklärt es sich, daß die Größe des Gesamtumsatzes konstant ist. Solange Sauerstoff in den Geweben vorhanden ist, wird das Brennmaterial oxydiert; wenn die Sauerstoffspannung der Gewebe auf Null sinkt, wird anscheinend nur der erste Teilprozeß der Oxydation, die anoxydative Spaltung, verwirklicht. Gegen diese Auffassung scheint die Tatsache, daß anoxybiotisch und oxybiotisch verschiedene Glykogenmengen zersetzt werden, eine unlösliche Schwierigkeit zu bilden; wenn man jedoch annimmt, daß die anoxydativen Prozesse wenigstens primär wie bei Wirbeltieren verlaufen, daß also anoxydativ eine bestimmte Glykogenmenge in Milchsäure übergeführt wird, die durch Sauerstoff nur zum geringeren Teil oxydiert, zum größeren aber zu Glykogen restituiert wird, dann ist diese Schwierigkeit überwunden. Um dieser Annahme Berechtigung zu geben, ist es nötig, das Vorkommen der Glykolyse auch bei Wirbellosen zu beweisen. Jedenfalls läßt sich schon jetzt ein gewisser Unterschied gegenüber den Wirbeltieren insofern feststellen, als hier (bei den Würmern) anoxydativ eine größere Glykogenmenge verbraucht wird. Das ist insofern von Bedeutung, als dadurch während der anoxydativen Phase verglichen mit den entsprechenden Verhältnissen bei Wirbeltieren eine größere Energiemenge frei wird; wenn die Tiere also ganz zur anoxybiotischen Lebensweise gezwungen sind, wird immerhin eine Energiemenge frei, die der oxybiotisch erzeugten einigermaßen nahe kommt. Natürlich wird trotzdem die Ausnutzung der Nahrung im anoxydativen Falle bedeutend schlechter sein als im oxydativen; eine solche anoxydative Lebensweise ist jedenfalls nur dann möglich, wenn Nahrung im Überschuß vorhanden ist wie bei den in nährstoffreichem Schlamm lebenden *Tubificiden*

(= partiar anoxybiotisch lebende Formen) oder — in noch höherem Maße — bei den Entoparasiten (= total anoxybiotisch lebende Formen).

In der vorausgegangenen Betrachtung ist insofern ein gewisser Fehler enthalten, als angenommen wurde, daß die Kurve des Glykogenverbrauchs die Intensität der anoxydativen Prozesse darstellt; in Wirklichkeit wird natürlich auch oxybiotisch Glykogen verbraucht, und diese Glykogenmenge ist mit in der Kurve enthalten. Der Fehler ist jedoch relativ gering und ändert die Form der Kurve nur wenig, wie Abb. 13 zeigt, in der der tatsächliche anoxybiotische Glykogenverbrauch dargestellt ist unter der Voraussetzung, daß anoxybiotisch die 6fache Glykogenmenge zersetzt wird als oxybiotisch.

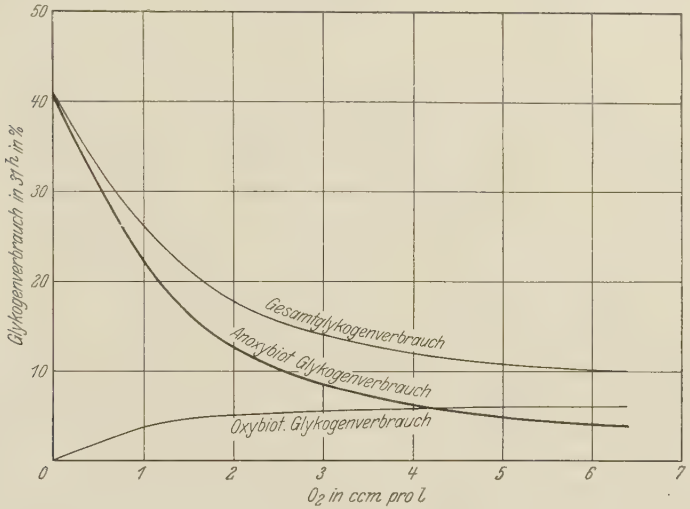

Abb. 13. Kurven des anoxybiotischen und oxybiotischen Glykogenverbrauchs von *Tubifex* bei verschiedenen Sauerstoffspannungen.

An dieser Stelle möge eine Spekulation über die Gesamtenergieproduktion in den Kreis der Betrachtungen eingefügt werden, die in ihrer Eigenschaft als Spekulation natürlich keinen Anspruch auf Exaktheit macht, aber doch recht anschaulich die Konstanz der Energieproduktion der *Tubificiden* verbildlicht. Die oxydativ erzeugte Energie wird dem Sauerstoffverbrauch linear proportional sein, ebenso die anoxydative der Größe des anoxydativen Glykogenverbrauchs. Um die jeweils gelieferte Gesamtenergie zu ermitteln, ist es also noch nötig zu wissen, wie groß das Verhältnis der anoxybiotischen zur oxybiotischen Energieproduktion ist. Hierüber liegen bei den *Tubificiden* keine Messungen vor, wenn man aber annimmt, daß wie beim Wirbeltier $^3/_7$ der oxydativ erzeugten Energiemenge frei werden[1], so kann man die Gesamtenergie, die *Tubifex* bei ver-

[1] Messungen an *Ascaris* (Krummacher 1919) ergaben, daß pro Gramm Glykogen etwa 300—400 Kalorien frei werden. Allerdings war bei diesen Versuchen

schiedenen Sauerstoffspannungen erzeugt, berechnen, wie dies in Abb. 14 geschehen ist. Danach ist die Energieproduktion weitgehend unabhängig vom Sauerstoffdruck, erst bei einem Sauerstoffgehalt von 2 ccm pro

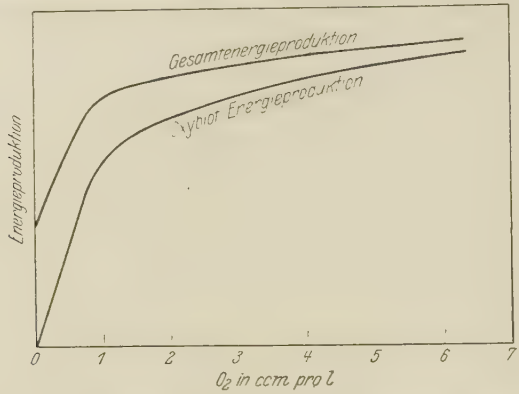

Abb. 14. Kurven der Energieproduktion von *Tubifex* bei verschiedenen Sauerstoffspannungen.

Liter sinkt sie auf 90%, bei 1 ccm pro Liter auf 80%. Diese Werte werden wahrscheinlich einigermaßen im Bereich der wirklichen liegen.

3. Das Wesen des anoxydativen Prozesses; Glykogenrestitution in der Erholung nach Anoxybiose.

Es bleibt noch die recht schwierige Frage nach dem Wesen des anoxydativen Prozesses zu erörtern. Es wurde schon erwähnt, daß es in der Hauptsache zwei Theorien gibt, von denen die eine Gärung, die andere Glykolyse als energieliefernden Prozeß annimmt. Eine Gärung würde etwa nach der Weinlandschen Formel verlaufen:

$$4\,C_6H_{12}O_6 = 3\,CH_3 \cdot (CH_2)_3 \cdot COOH + 9\,CO_2 + 9H_2\,.$$

Es würde dabei eine Fettsäure (Valeriansäure) und CO_2 gebildet werden, ferner Wasserstoff oder doch eine reduzierende Verbindung (etwa CH_4), die sich aber beide nicht nachweisen lassen. Die Glykolyse verläuft anders; sie zerfällt in zwei Prozesse, einen anoxydativen und einen oxydativen, von denen bei Abwesenheit von Sauerstoff naturgemäß nur der erstere stattfinden kann:

Anoxydativ: 4 Glykogen + 4 H_2O → 4 Traubenzucker → 8 Milchsäure.

der Sauerstoff nicht ganz ausgeschaltet, da der Autor glaubte, daß der Sauerstoff für den Stoffwechsel der Spulwürmer bedeutungslos sei. Das wird jedoch von Slater (1928) bestritten. Nimmt man an, daß durch den bei *Ascaris* gefundenen Wert von 350 Kalorien der anoxybiotische Energiewert des Glykogens dargestellt wird, so würde bei *Lumbricus* und *Tubifex* anoxybiotisch (6 · 350 = 2100 Kalorien) etwa die Hälfte der oxybiotischen Energie (etwa 4000 Kalorien) produziert werden. Dieser Wert würde den theoretischen Vorstellungen bei Annahme einer Glykolyse als energieliefernden Prozeß einigermaßen entsprechen.

Oxydativ: 8 Milchsäure + 6 O_2 → 6 CO_2 + 6 H_2O + 3 Traubenzucker → 3 Glykogen[1].

Hierbei wird also zuerst anoxydativ aus Glykogen Milchsäure gebildet, und diese wird dann oxydativ zu $^1/_4$ (—$^1/_5$) verbrannt, während $^3/_4$ (—$^3/_5$) mittels der oxydativ gewonnenen Energie zu Glykogen restituiert werden. Die energetischen Verhältnisse sind bei beiden Prozessen wesentlich verschieden: Die Energieproduktion bei der tierischen Gärung ist bisher nicht gemessen worden (vgl. dazu S. 595 Anm.), wenn man jedoch annimmt, daß sie derjenigen der bakteriellen Gärung (spez. Buttersäuregärung) gleichkommt, so wird pro Gramm ausgeschiedenem Kohlendioxyd nur 16% der oxydativ produzierten Energiemenge frei (zit. nach Lesser 1912). Bei der Glykolyse der Wirbeltiere hingegen werden anoxydativ $^3/_7$ der Gesamtenergie frei, also etwa 40—45% (vgl. Meyerhof 1925). Dies erklärt sich dadurch, daß in der anoxydativen Phase der Glykolyse ein Teil der hierbei frei werdenden Energie zur Restitution des Glykogens aus Milchsäure verwendet wird, wodurch der oxydative Energiewert herabgesetzt, der anoxydative dagegen relativ erhöht wird.

Die Annahme einer Glykolyse auch bei niederen Tieren erscheint nach dem ganzen Verlauf der Anoxybiose eigentlich recht plausibel: Es findet bei Wirbellosen (Würmern) anoxydativ der 6fache Glykogenverbrauch des normalen statt — bei der Glykolyse ist eine ganz ähnliche (4—5fache) Glykogenzersetzung zu verzeichnen. Ferner wird in beiden Fällen eine Säure gebildet, die bei niederen Tieren noch nicht vollkommen sicher identifiziert werden konnte, bei Wirbeltieren jedoch mit Sicherheit als Milchsäure erkannt wurde. Es gibt aber einige Argumente, die gegen die Anwendung der Michsäurehypothese auf Wirbellose zu sprechen scheinen, z. B. die CO_2-Produktion der Tiere bei Sauerstoffmangel. Allerdings ist auch eine Erklärung dieser Tatsache möglich, indem man annimmt, daß die Milchsäure die im Blut gebundene Kohlensäure austreibt — bei den Wirbeltieren wird auf diese Art ja auch Kohlendioxyd frei —, aber es ist doch fraglich, ob damit die gesamte anoxybiotische Kohlendioxydproduktion erklärt werden kann. — Ein weiteres Argument gegen die Annahme einer Glykolyse besteht in der Tatsache, daß Milchsäure in den Geweben angehäuft und nicht ausgeschieden wird. Zwar stellte Lesser (1909) fest, daß die in der Anoxybiose gebildete Fettsäure beim Regenwurm tatsächlich im Gewebe angehäuft wird, aber bei einem Tier, das — wenigstens partiell — stets anoxybiotisch lebt, ist eine derartige An-

[1] Meyerhof selbst gibt eine kompliziertere Darstellung dieser Vorgänge, die den Versuchsergebnissen besser gerecht wird, jedoch genügt in diesem Zusammenhang die vorliegende verkürzte Formulierung (im wesentlichen nach Jordan 1929). In Wirklichkeit spielt die Phosphorsäure bei den Umsetzungen des Glykogens eine wesentliche Rolle (vgl. Meyerhof 1925, S. 489).

häufung der in starken Konzentrationen schließlich doch giftigen Endprodukte undenkbar.

Verschiedene Forscher haben sich in neuerer Zeit mit diesen Problemen beschäftigt und vor allem die Endprodukte des anoxybiotischen Stoffwechsels selbst untersucht, um der Lösung der Frage näher zu kommen. In den Extraktstoffen von *Lumbricus terrestris* wiesen Kutscher und Ackermann (1922) Bernsteinsäure und Milchsäure nach. Bei genauerer Untersuchung der von *Ascaris* ausgeschiedenen Säure fand Fischer (1924), daß 10% aus Michsäure bestehen. Ferner wies Slater (1925, zit. nach 1928) nach, daß die Darmbakterien des Pferdes Traubenzucker in Valeriansäure überzuführen vermögen; es liegt also die Möglichkeit vor, daß die von *Ascaris megalocephala* ausgeschiedene Säure von Darmbakterien verändert wird. Diese Beobachtung ist außerordentlich wichtig: die Möglichkeit einer bakteriellen Einwirkung läßt sich nie ganz ausschalten, ohne die Funktionen des Organismus zu stören oder doch seinen Stoffwechselmechanismus weitgehend zu verändern. Aus diesem Grunde führt auch die Untersuchung der Stoffwechselprodukte nie mit Sicherheit zu dem gewünschten Ziel. Man muß also, um einen Einblick in die chemischen Prozesse bei der Anoxybiose der Wirbellosen zu erhalten, einen anderen Weg einschlagen. Einen Hinweis für einen solchen Ausweg gibt folgende Überlegung: Nur im Falle der Glykolyse wird eine Restitution des Glykogens bei Wiederzuführung von Sauerstoff zu erwarten sein; wenn eine Gärung vorliegt, ist eine wesentliche Zunahme des Glykogengehalts in kurzer Versuchszeit höchst unwahrscheinlich, da dieselbe erst allmählich durch Umbildung von Fetten zu Kohlehydraten vor sich gehen könnte. Man braucht also nur zu untersuchen, ob während einer bestimmten Zeit eine solche Restitution in der Erholung (in normal sauerstoffhaltigem Wasser) nach vorausgegangener Anoxybiose stattfindet.

Versuche in diesem Sinne wurden an *Tubificiden* auf folgende Weise vorgenommen: Eine größere Menge Tiere wurde von Schlamm befreit und in fließendem Wasser ohne Nahrung gehalten. Nach 3 Tagen wurde eine Portion der Würmer auf Glykogen verarbeitet, der größere Teil jedoch in dem in Abb. 11 dargestellten und bereits schon beschriebenen Apparat einer vollständigen Anoxybiose während ungefähr 23 Stunden ausgesetzt[1]. Unmittelbar nach Beendigung der Anoxybiose wurde die Hälfte dieser Tiere in zwei Portionen auf Glykogen verarbeitet, während die andere Hälfte zur Erholung in fließendes Wasser gebracht wurde. Nach 4stündiger Erholungszeit wurde ein Teil dieser Tiere auf Glykogen verarbeitet, nach weiteren 2 Stunden der Rest. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigt Tabelle 8. Man ersieht aus diesen Werten, daß

[1] Um vollständigen Sauerstoffmangel zu garantieren, wurde in den Kreislauf eine Waschflasche mit alkalischer Pyrogallollösung eingeschaltet.

eine ganz wesentliche Restitution des Glykogens stattfindet, wenn auch natürlich nicht das ganze anoxybiotisch verbrauchte Glykogen restituiert wird. Das ist leicht begreiflich, da stets ein nicht unwesentlicher Teil der

Tabelle 8.

	Tiermenge in g	Glykogengehalt als Cu_2O	Glykogengehalt pro g Tier als Cu_2O	Glykogen in % von ante	Glykogenverbrauch in % von ante	Restituiert in % von ante
ante	11,064	0,2442	0,02207	100		—
22.7^h Anoxybiose	8,757	1377	1573	71,3	25,7	—
do	9,268	1581	1706	77,3		—
do + 4^h Erholung	8,045	1508	1874	84,9	15,1	10,6
do + 6^h Erholung	8,595	1644	1913	86,7	13,3	12,4

Säure verbrannt wird ($^1/_5$—$^1/_6$). Allerdings scheint trotzdem weniger Glykogen restituiert zu werden, als man erwarten muß ($^4/_5$—$^5/_6$). Das scheint dafür zu sprechen, daß wenigstens ein Teil der Säure ausgeschieden wird. Andererseits ist durch die mitgeteilten Versuchsergebnisse aber auch sichergestellt, daß eine Anhäufung der Säure in den Geweben stattfindet, da sonst eine Restitution des Glykogens unmöglich wäre. Es ist auch nicht unmöglich, daß ein Teil der gebildeten Milchsäure als Valeriansäure ausgeschieden wird; nach Jost (1928) soll im lebenden Tier zunächst aus Glykogen über Traubenzucker Milchsäure gebildet werden, die dann über verschiedene Zwischenprodukte in Valeriansäure übergeführt wird. Aber diese Vermutung ist noch nicht durch Versuche gestützt, der bloße Befund von Valeriansäure im Außenwasser (*Ascaris*) genügt nicht, da bakterielle Einwirkung nicht ausgeschlossen ist; auch ist es nicht ohne weiteres einzusehen, warum gerade Valeriansäure ausgeschieden werden soll, Milchsäure hingegen nicht. Jedenfalls aber muß eine Ausscheidung der Säure angenommen werden, da sonst eine dauernde, wenn auch bei normalem Sauerstoffdruck nur auf einige Gewebepartien beschränkte (partielle) Anoxybiose trotz der relativ großen Unempfindlichkeit des Zentralnervensystems der Würmer gegen Säureanhäufung unmöglich ist.

C. Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Atmungsregulation bei den Tubificiden.

Es ist schon in der Einleitung erwähnt worden, daß nach den Angaben von Winterstein u. a. als chemischer Atemregulator bei den *Tubificiden* nur der Sauerstoff wirksam sein soll, nicht aber das Kohlendioxyd bzw. die Wasserstoffionenkonzentration. Im Gegensatz hierzu steht die Tatsache, daß bei höheren luftatmenden Tieren die Wasserstoffionenkonzentration in den Atemzentren als wichtiger chemischer Faktor der

Atemregulation erkannt worden ist, daß bei diesen Tieren der Sauerstoffdruck in dieser Hinsicht also keine Rolle spielt. Der Sauerstoffmangel als solcher wirkt nur scheinbar atmungssteigernd, in Wirklichkeit handelt es sich hierbei um die Anhäufung unvollkommen oxydierter Substanzen (Milchsäure), die die [H·] des Blutes erhöhen; wenn man diese unvollkommen oxydierten Substanzen entfernt, etwa indem man Salzlösungen mit verschiedenen Sauerstoffspannungen durch die Blutbahnen strömen läßt, so ändert sich die Atemintensität nicht, sobald aber die [H·] der durchströmenden Salzlösung erhöht wird, tritt eine deutliche Steigerung der Atembewegungen unabhängig von der jeweils herrschenden Sauerstoffspannung auf (Winterstein 1911 u. a.). Es ist ferner festgestellt worden, daß Kohlendioxyd nicht spezifisch, sondern nur durch seine [H·] wirkt; die scheinbar größere Wirksamkeit des Kohlendioxyds beruht auf seiner Lipoidlöslichkeit: die H· können nur schwer durch lipoidhaltige Hautschichten diffundieren, während Kohlendioxyd leicht durchdringt.

Diese Art der chemischen Atmungsregulation findet man bei Wirbeltieren vor; über die Bedeutung der [H·] als Atemregulator bei niederen Wassertieren wissen wir noch recht wenig, die Angaben hierüber schwanken. So zeigte J. Stahn (1928), daß bei Larven von *Aeschna grandis* die Atemtätigkeit bei Erhöhung der [H·] von $p_H = 7$ auf $p_H = 6{,}25$ gesteigert wird und bei noch erhöhter Acidität wieder sinkt. Diese Werte beziehen sich auf CO_2, andere Säuren reizen erst bei höherem Säuregehalt des Mediums. Niedere Tiere sollen jedoch auch auf Sauerstoffmangel selbst reagieren, wie z. B. Babák (1907) an *Aeschna* zu zeigen vermochte, allerdings scheint es sich hierbei um reflektorische Regulierung zu handeln, indem der Sauerstoffmangel eine Reizwirkung auf ein Sinnesorgan ausübt. Anderen Forschern zufolge (z. B. Winterstein 1925, nach Versuchen an *Octopus*) sollen jedoch Sauerstoffmangel und Kohlendioxydanhäufung bei niederen Tieren ähnlich wie bei höheren nur durch die veränderte [H·] wirken. Über die Verhältnisse bei Würmern sind wir noch ganz im Unklaren, es liegen kaum Versuche vor, die für eine Atemregulation durch die [H·] oder den Sauerstoffmangel sprechen. Alsterberg (1922) untersuchte bei *Tubificiden* die Einwirkung des Kohlendioxyds auf Länge und Rhythmik des aus dem Boden herausgestreckten Hinterendes und kam zu dem Resultat, daß Kohlendioxyd beide nicht beeinflußt; hingegen ergab sich aus anderen Versuchen dieses Autors eine deutliche Beziehung zum Sauerstoffdruck (Tabelle 3 in 1922). Offensichtlich handelt es sich hier also um atemregulatorische Erscheinungen, indem bei einsetzendem Sauerstoffmangel die Atembewegungen verstärkt werden und ihre Wirksamkeit noch durch Verlängerung des freien Hinterendes erhöht wird. Aus der Tatsache, daß nur durch Sauerstoff Länge und Rhythmik beeinflußt wird, schließt Alsterberg, daß allein

der Sauerstoff, nicht aber das Kohlendioxyd (also auch nicht die [H·]) von atemregulatorischer Bedeutung ist.

Die Alsterbergsche Methodik läßt insofern zu wünschen übrig, als nur die CO_2-Spannungen des Mediums, nicht aber die p_H-Werte gemessen wurden, auch schwanken die verschiedenen Frequenz- und Längenwerte bei den einzelnen Tieren so sehr, daß von einer Konstanz der Atemintensität — wenigstens bei einem Einzeltier — nicht ohne weiteres gesprochen werden kann. Um eine Konstanz oder Inkonstanz der Anzahl der Atembewegungen festzustellen, bleibt demnach nur der Ausweg, daß man die individuellen Schwankungen ausschaltet, indem man die Mittelwerte aus einer größeren Anzahl von Bestimmungen über die Frequenz der Atembewegungen bei verschiedener [H·] des Mediums feststellt.

Zu diesem Zwecke wurden die Alsterbergschen Versuche teilweise

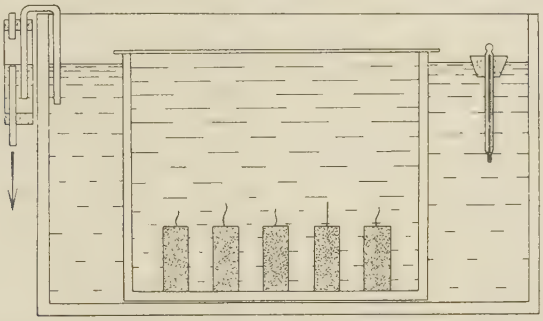

Abb. 15. Apparatur zur Messung der Frequenzen der Rhythmik des Hinterendes von *Tubifex* (nach Alsterberg).

wiederholt und durch solche mit anderen Säuren (HCl) ergänzt. Zur Untersuchung kamen *Tubifex tubifex* (Müll.) und *Limnodrilus claparèdeianus* (Ratzel). Die Methodik lehnte sich dabei eng an die Alsterbergsche an (Abb. 15, betreffs der Methodik vergleiche auch Alsterberg 1922): Die Tiere kamen einzeln in Präparatenröhrchen von 4 cm Höhe und 2,5 cm Durchmesser, die bis oben hin mit Schlamm gefüllt waren. Diese Kulturen stellte ich in ein geräumiges Aquarium, das mit einer Glasscheibe nach außen hin abgeschlossen und vollständig mit dem Versuchswasser gefüllt war. Das Aquarium stand in einem größeren Wasserbehälter, der als Thermostat diente und dessen Temperatur möglichst konstant gehalten wurde. Als Versuchswasser wurde Leitungswasser benutzt[1], dessen p_H nach der alkalischen Seite durch NaOH, nach der sauren durch CO_2 und HCl variiert wurde. Die p_H-Wertbestimmungen wurden mit Indikatoren nach Michaelis ausgeführt (siehe

[1] Bindet bei Entnahme aus der Wasserleitung 16,2 ccm · $\frac{n}{100}$ HCl, dabei ist das p_H = 6,8—7,0.

Michaelis 1930, S. 51). Um eine größere Länge des Hinterendes und eine leichter meßbare Frequenz der rhythmischen Bewegungen zu erzielen, wurde das Versuchswasser sauerstoffarm gemacht; da aber (nach Alsterberg) die Sauerstoffspannungen die Intensität der Atembewegungen weitgehend beeinflussen, mußte der Sauerstoffdruck des Versuchswassers während der verschiedenen Versuchsserien annähernd konstant gehalten werden. Dies wurde dadurch erzielt, daß vor Versuchsbeginn durch Leitungswasser eine bestimmte Zeitlang ein gleichmäßig starker Stickstoffstrom geleitet wurde; der Sauerstoffgehalt betrug dann stets 2,0—2,4 ccm pro Liter (Sauerstoffanalysen nach Winkler in 150 ccm-Flaschen). Frequenz und Rhythmik wurden etwa 12 Stunden nach der jeweiligen Füllung des Versuchsaquariums mit neuem Versuchswasser bestimmt. Der Wechsel des Versuchswassers wurde so vorgenommen, daß das schon zu einem Versuch benutzte Wasser bis zur Höhe der Kulturen abgehebert und das neue Wasser auf den Boden des Aquariums geleitet wurde; gegen die dabei auftretenden Strömungen sind die Tiere unempfindlich, im Gegensatz zu mechanischen Störungen, auf die sie mit veränderter Frequenz und Länge der Hinterenden reagieren. Der Thermostat stand deshalb zum Schutz gegen mechanische Störungen auf einer dicken Filzunterlage. Die Längenwerte des Hinterendes wurden mittels eines Abstechzirkels in einer Entfernung von 8 cm gemessen (Augenabstand 30 cm); die Fehler, die durch die Ablesemethode auftreten, sind bei allen Versuchen gleich groß, die Werte erfüllen daher in genügendem Maße den Anspruch auf relative Genauigkeit. Bestimmt wurde ferner die Anzahl der Hin- und Herschwingungen des Hinterendes in 30 Sek. Für die Zeitmessung diente eine Stoppuhr. Die gefundenen Frequenzwerte bei einem p_H von 6,8—7,0 wurden für jedes Tier = 100 gesetzt, die übrigen Frequenzwerte auf diesen Wert bezogen. Jeweils zu Ende der Versuche wurde eine Sauerstoffanalyse und eine p_H-Bestimmung ausgeführt. Die Sauerstoffspannungen waren am Ende der Versuche gegen die Werte zu Versuchsbeginn nur wenig verändert und lagen zwischen 1,7 und 2,2 ccm pro Liter, das p_H wurde von 8,3—5,55 variiert; die Temperatur lag stets zwischen 16,0 und 17,0° C.

Die Ergebnisse einer Reihe von Versuchsserien sind in den Tabellen 9 und 10 wiedergegeben. Es bedeutet: T = *Tubifex*, L = *Limnodrilus*, CO_2 = sauer durch CO_2, HCl = sauer durch HCl. Die mittleren Frequenzwerte, die sich aus der Tabelle 9 ergeben, sind in Tabelle 11 und in Abb. 16—18 dargestellt worden. Abb. 16 bezieht sich auf *Tubifex*, Abb. 17 auf *Limnodrilus*, Abb. 18 auf beide kombiniert. Die Zahlen bei den einzelnen Punkten geben die Anzahl der untersuchten Fälle an, die stark ausgezogenen Linien beziehen sich nur auf Punkte, die Mittelwerte von mindestens drei Werten darstellen.

Aus diesen Kurven ist ersichtlich, daß der (relative) Frequenzwert 100

Tabelle 9.

p_H	Frequenz	Tierart	Bemerkung	p_H	Frequenz	Tierart	Bemerkung	p_H	Frequenz	Tierart	Bemerkung
8,3	104	*L*		6,6	102,7	*L*	CO_2	6,3	96	*L*	HCl
	84,5	*L*			97,8	*L*	CO_2		95	*L*	HCl
	98,2	*L*		6,5	96,5	*L*	HCl		100	*L*	HCl
	95	*L*			96,6	*L*	HCl		85	*L*	HCl
	98	*L*			112	*L*	HCl		91	*L*	HCl
	102,7	*L*			94	*L*	HCl		96	*L*	HCl
	104,5	*L*			91	*L*	HCl	6,2	100	*L*	CO_2
	98,5	*L*			103	*L*	HCl		92	*L*	HCl
8,1	110	*T*			97,5	*L*	HCl		93	*L*	HCl
	100	*T*		6,4	103	*T*	CO_2		98	*L*	HCl
	103	*T*			103,8	*L*	CO_2	6,1	92	*T*	HCl
	97,5	*T*			98,7	*L*	CO_2		97,5	*T*	HCl
	91	*T*			101,5	*L*	CO_2		92,5	*T*	HCl
8,0	108,5	*L*			96	*L*	CO_2		75	*L*	CO_2
7,9	86	*T*		6,3	100	*T*	HCl		83	*L*	CO_2
	86	*T*			109	*T*	HCl		97,2	*L*	CO_2
7,7	97,5	*L*			119	*T*	HCl	6,0	92,3	*L*	CO_2
	102,2	*L*			103	*T*	HCl		105	*L*	CO_2
	94,3	*T*			97	*T*	HCl		95,8	*L*	CO_2
	93	*L*			92,5	*T*	HCl		106,5	*L*	CO_2
	98,6	*L*			93,5	*T*	HCl	5,9	104	*T*	HCl
	106	*L*			100	*T*	CO_2		108	*T*	HCl
	102,3	*L*			103,5	*T*	CO_2		106,5	*T*	HCl
	101,8	*L*			99,2	*T*	CO_2		105	*T*	HCl
7,5	106	*T*			119	*T*	CO_2		102	*T*	HCl
	99,2	*T*			109	*T*	CO_2		108	*T*	HCl
	97,5	*T*			92	*T*	CO_2		95	*T*	HCl
7,3	106	*T*			100	*L*	HCl		96	*T*	HCl
	108	*L*			93	*L*	HCl	5,7	91	*L*	HCl
	111	*L*			93,5	*L*	HCl		85	*L*	HCl
6,8–7,0	100	*T*, *L*			113	*L*	HCl	5,55	102,3	*T*	HCl
6,6	98,8	*T*	HCl		100	*L*	HCl		73	*T*	HCl
	96,7	*T*	HCl		76	*L*	HCl		101,3	*T*	HCl
	97	*T*	CO_2		108,5	*L*	HCl		95,5	*T*	HCl
									97	*T*	HCl

Tabelle 10.

p_H	6,8—7,0	6,4	6,3	6,1
		9,0	10,0	10,0
Länge des Hinterendes,		10,0	10,3	9,7
bezogen auf die Länge	10,0	8,6	9,8	10,8
bei p_H 6,8 bis 7,0 = 10,0		10,5	10,5	9,0
		10,0	10,5	11,2
Mittlere Längenwerte	10,0	9,6	10,2	10,1

Tabelle 11.

p_H	*Tubifex*		*Limnodrilus*		*Tubifex + Limnodrilus*		p_H	*Tubifex*				*Limnodrilus*				*Tubifex + Limnodrilus*	
								HCl		CO_2		HCl		CO_2			
	M	*A*	*M*	*A*	*M*	*A*		*M*	*A*	*M*	*A*	*M*	*A*	*M*	*A*	*M*	*A*
8,3	—	—	98,2	8	98,2	8	6,6	—	—	97,6	3	—	—	100,2	2	98,6	5
8,1	100,3	5	108,5	1	101,6	6	6,5			—	—	98,7	5	—	—	98,7	5
7,9	86,0	2	—	—	86,0	2	6,4	—	—	103,0	1	—	—	100,3	4	100,6	5
7,7	94,3	1	100,2	7	99,5	8	6,3	102,0	7	103,8	6	97,6	12	—	—	100,3	25
7,5	100,9	3	—	—	100,9	3	6,2	—	—	—	—	94,3	3	100,0	1	96,2	4
7,3	106,0	1	109,5	2	108,3	3	6,1	94,0	3	—	—	—	—	85,0	3	89,5	6
6,8–7,0	100,0	—	100,0	—	100,0	—	6,0	—	—	—	—	—	—	99,9	4	99,9	4
							5,9	103,0	8	—	—	—	—	—	—	103,0	8
							5,7	—	—	—	—	88,0	2	—	—	88,0	2
							5,55	94,0	5	—	—	—	—	—	—	94,0	5

nahezu bei allen p_H-Werten erreicht ist, daß jedenfalls also von einer Veränderung der Atembewegungen durch die [H·] nicht gesprochen werden kann. Ebenso zeigt Tabelle 10, daß auch die Länge des Hinterendes durch die [H·] nicht beeinflußt wird. Es muß demnach angenommen werden, daß die Atemintensität tatsächlich — wie auch ALSTERBERG festgestellt hat — von der [H·] des Außenmediums unabhängig ist.

Damit scheint die Frage nach der atemregulatorischen Bedeutung der [H·] dahingehend beantwortet zu sein, daß die [H·] des Außenmediums auf die Atembewegungen unwirksam ist. Das erscheint recht plausibel: Eine Reaktion auf die veränderte [H·] durch erhöhte Atembewegungen würde, weil der Sauerstoffgehalt des Wassers in weiten Grenzen unabhängig von der [H·] sein kann, sehr unzweckmäßig sein, wenigstens dem Atembedarf des Tieres in keiner Weise entsprechen. Andererseits kann der Sauerstoffgehalt des Wassers beträchtlich schwanken, ohne daß sich die [H·] ändert; auf solche wechselnden Sauerstoffspannungen muß der Wurm begreiflicherweise reagieren, wenn er den an ihn in respiratorischer Hinsicht gestellten Anforderungen gerecht werden soll. Eine Reaktion auf veränderten Sauerstoffdruck ist also ebenso sehr verständlich, wie eine solche auf veränderte [H·]

zunächst unverständlich bleibt. Allerdings beziehen sich diese Betrachtungen sämtlich auf das Außenmilieu der Tiere; ob im Innern der Tiere (speziell an den Atemzentren) die gleichen Verhältnisse herrschen, ist

Abb. 16.

Abb. 17.

Abb. 18.

Abb. 16—18. Frequenzen der Schwingungen des Hinterendes bei verschiedenem p_H und konstantem Sauerstoffdruck von 16: *Tubifex*, 17: *Limnodrilus*, 18: *Tubifex* + *Limnodrilus*. Nähere Erklärung im Text.

damit jedoch noch keineswegs sichergestellt. Zur Nachprüfung dieser Möglichkeit wird es notwendig sein, Versuche, wie sie Winterstein an Kaninchen ausführte (vgl. S. 600), an Wirbellosen zu wiederholen.

Zusammenfassung.

1. Mittels der WINKLERschen Methode konnte gezeigt werden, daß der Sauerstoffverbrauch der *Tubificiden* vom Sauerstoffdruck des Außenmediums abhängig ist.

2. Die Größe des Sauerstoffverbrauchs wird u. a. durch zwei Faktoren bedingt: einerseits durch die Menge des physikalisch im Blut gelösten Sauerstoffs und andererseits durch die Menge des an Hämoglobin gebundenen Sauerstoffs. Da der Sauerstoffdruck in den Geweben Null ist, muß der Sauerstoff des Oxyhämoglobins stets unabhängig von der äußeren Sauerstoffspannung vollständig abdissoziieren. Die Größe der Sauerstoffmenge, die dem Organismus durch das Hämoglobin des Blutes zugeführt wird, ist unabhängig vom Sauerstoffdruck, solange sich das Hämoglobin an den Diffusionsflächen mit Sauerstoff sättigen kann (bis etwa 1 ccm O_2 pro Liter).

3. Die CO_2-Produktion ist in weiten Grenzen unabhängig vom Sauerstoffdruck: erst unterhalb eines O_2-Gehalts von 0,3 ccm pro Liter fällt die CO_2-Produktion unter die Norm und bis auf die Hälfte des normalen Wertes bei völligem Sauerstoffmangel.

4. Der RQ beträgt schon bei normalem Sauerstoffgehalt 1,32, d. h. schon hier wird ein Teil der Energie durch anoxydative Prozesse bestritten. Für diese Tatsache spricht auch die Form der Sauerstoffkurve, die auf ein Sauerstoffdefizit der Gewebe hinweist. Die Größe des RQ wächst mit zunehmendem Sauerstoffmangel, der Umfang der anoxydativen Prozesse nimmt demnach mit fallendem Sauerstoffpartiardruck zu.

5. Die Fähigkeit zur Anoxybiose wurde näher untersucht. Es ergab sich, daß $^1/_3$ der untersuchten Tiere vollständigen Sauerstoffentzug bei 0—2° C 48 Tage lang aushielt, bei höheren Temperaturen allerdings war die Widerstandsfähigkeit gegen Sauerstoffentzug bedeutend geringer (Lebensdauer $<$ 9 Tage bei 18—20° C).

6. Es wurde die Abhängigkeit des Glykogenverbrauchs vom Sauerstoffdruck untersucht. Anoxybiotisch wird eine weitaus größere ($>$vierfache) Glykogenmenge umgesetzt als oxybiotisch. Der Glykogenverbrauch nimmt allmählich zu, wenn der Sauerstoffpartiardruck sinkt; Sauerstoffkurve und Glykogenverbrauchskurve sind einander spiegelbildlich. Es scheint demnach die Annahme berechtigt, daß der Stoffumsatz weitgehend unabhängig vom Sauerstoffdruck ist.

7. Ein Teil (etwa 50%) des anoxydativ umgesetzten Glykogens wird in der Erholung nach vorausgegangener Anoxybiose in kurzer Zeit restituiert. Diese Tatsache kann als Argument für die Annahme einer Glykolyse als anoxydativ stattfindenden Prozeß angeführt werden.

8. Als chemischer Atemregulator ist die [H·] des Außenmediums im Gegensatz zum Sauerstoffdruck (der nach ALSTERBERG die Atembewegungen weitgehend beeinflußt) ohne Bedeutung.

Literatur.

Alsterberg: Die respiratorischen Mechanismen der Tubificiden. Lunds Univ. Årsskr. **18**, 1 (1922). — Die Sinnesphysiologie der Tubificiden. Ebenda **20**, 1 (1924). — **Aubert:** Über den Einfluß der Temperatur auf die Kohlensäureausscheidung und die Lebensfähigkeit der Frösche in sauerstoffloser Luft. Pflügers Arch. **26**, 293 (1881). — **Babák:** Untersuchungen über den Auslösungsreiz der Atembewegungen bei den Libellulidenlarven. Ebenda **119**, 530 (1907). — **Barcroft:** The blood pigment of *Arenicola*. Proc. roy. Soc. Lond. **96**, 28 (1924). — **Bounhiol:** Respiration des annélides polychètes. Ann. des Sci. natur., 8. sér. (Zool.), **1902**, 1. — **v. Brand:** Stoffbestand und Ernährung einiger Polychäten und anderer mariner Würmer. Z. vgl. Physiol. **5**, 643 (1927). — Stoffbestand und Stoffwechsel von *Moniezia expansa*. Zool. Anz. **4** (Suppl.), 64 (1929). — **Bunge:** Das Sauerstoffbedürfnis der Darmparasiten. Hoppe-Seylers Z. **8**, 48 (1883). — Über das Sauerstoffbedürfnis der Schlammbewohner. Ebenda **12**, 565 (1888). — Weitere Untersuchungen über die Atmung der Würmer. Ebenda **14**, 318 (1890). — **v. Buddenbrock:** Grundriß der vergleichenden Physiologie. 1928. — **v. Buddenbrock** u. **v. Rohr:** Die Atmung von *Dixippus morosus*. Z. allg. Physiol. **20**, 111 (1923). — **Cole:** Oxygen supply of certain animals living in water containing no dissolved oxygen. J. of exper. Zool. **33**, 293 (1921). — **Collip:** A further study of the respiratory processes in *Mya arenaria* and other marine Mollusca. J. of biol. Chem. **49**, 297 (1921). — **Dolk** u. **van der Paauw:** Die Leistungen des Hämoglobins beim Regenwurm. Z. vergl. Physiol. **10**, 324 (1929). — **Fischer:** Über den Kohlehydratstoffwechsel von *Ascaris megalocephala*. Biochem. Z. **144**, 224 (1924). — **Gaarder:** Über den Einfluß des Sauerstoffdruckes auf den Stoffwechsel. 1. Nach Versuchen an Mehlwurmpuppen. Ebenda **89**, 48 (1918). — **Harnisch:** Verbreitung und ökologische Bedeutung des Hämoglobins bei den Chironomidenlarven. X. Congrès internat. du Zool. Budapest 1927/29. — Der Einfluß verringerten Sauerstoffpartialdrucks auf den Gaswechsel von Schnittstücken der Larve von *Chironomus thummi*. Z. vergl. Physiol. **12**, 504 (1930). — **Henze:** Über den Einfluß des Sauerstoffdruckes auf den Gaswechsel einiger Meerestiere. Biochem. Z. **26**, 255 (1910). — **Jordan:** Allgemeine vergleichende Physiologie der Tiere (1929). — **Jost:** Vergleichende Physiologie des Stoffwechsels. BethesHandbuch **5**, 377 (1928). — **Juday:** Some aquatic invertebrates that live under anaerobic conditions. Trans. Wisc. Acad. Sci. Arts a. Letters **16**, 10 (1909). — **Konopacki:** Über den Atmungsprozeß bei Regenwürmern. Anz. Akad. Wiss. Krakau, Math.-naturwiss. Kl. **1907**, 357. — **Krogh:** The respiratory exchange of animals and man. 1916. — **Krummacher:** Untersuchungen über die Wärmeentwicklung der Spulwürmer. Z. Biol. **69**, 293 (1919). — **Kutscher** u. **Ackermann:** Über die Extraktstoffe von *Lumbricus terrestris*. Ebenda **75**, 315 (1922). — **Leitch:** The function of Hämoglobin in Invertebrates with special reference to *Planorbis*- and *Chironomus*-larvae. J. of Physiol. **50**, 370 (1916). — **Lesser:** Chemische Prozesse bei Regenwürmern. I. Der Hungerstoffwechsel. Z. Biol. **50**, 421 (1908). — Die Wärmeabgabe der Frösche in Luft und in sauerstofffreien Medien. Ebenda **51**, 287 (1908). — Chemische Prozesse bei Regenwürmern. II. Anoxybiotische Prozesse. Ebenda **52**, 282 (1909). — Chemische Prozesse bei Regenwürmern. III. Über anoxybiontische Zersetzung des Glykogens. Ebenda **53**, 533 (1910). — Chemische Prozesse bei Regenwürmern. IV. Der Gaswechsel der Regenwürmer in der Erholung nach vorausgegangener Anoxybiose. Ebenda **54**, 1 (1910). — Das Leben ohne Sauerstoff. Verh. physiol. Ges. Berl. **37** (1912). — Über Wärmeproduktion, CO_2-Abgabe und Milchsäurebildung bei der Anoxybiose des Frosches. Biochem. Z. **140**, 560 (1923). — **Meyerhof:** Atmung und Anaerobiose des Muskels. Bethes Handbuch 8, 1, 476 (1925) (daselbst weitere Literatur). — Thermodynamik des Muskels. Ebenda, S. 500

(1925) (daselbst weitere Literatur). — Die chemischen Vorgänge im Muskel. 1930. — **Michaelis:** Praktikum der physikalischen Chemie. 1930. — **Osterhout:** A method of studying respiration. J. gen Physiol. **1**, 17 (1918). — **Parker:** The calibration of the Osterhout respiratory apparatus for absolute quantities of Carbon Dioxyde. Ebenda **4**, 689 (1922). — **Pause:** Beiträge zur Biologie und Physiologie der Larve von *Chironomus gregarius*. Zool. Jb., Abt. Allg. Zool. **36**, 339 (1919). — **Pflüger:** Über die physiologische Verbrennung in den lebendigen Organismen. Pflügers Arch. **10**, 251 (1875). — Vorschriften zur Ausführung einer quantitativen Glykogenanalyse. Ebenda **93**, 163 (1903). — Eine neue Methode der Glykogenanalyse. Ebenda **114**, 231 (1906). — **Pütter:** Die Atmung der Protozoen. Z. allg. Physiol. **5**, 566 (1905). — Der Stoffwechsel des Blutegels. I. u. II. Ebenda **6/7**, 217 bzw. 16 (1906/07). — Allgemeine Lebensbedingungen. Bethes Handbuch **1**, 322 (1927). — **Schäperclaus:** Untersuchungen über den Stoffwechsel, insbesondere die Atmung niederer Wassertiere. Z. Fisch. **23**, 167 (1925). — **Slater:** Anaerobic life in animals. Biol. Rev. **3**, 303 (1928). — **Stahn:** Atmungsregulation bei *Dixippus morosus* und *Aeschna grandis*. Zool. Jb., Abt. Allg. Zool. u. Physiol. **46**, 1 (1928). — **Thienemann:** Untersuchungen über die Beziehungen zwischen dem Sauerstoffgehalt des Wassers und der Zusammensetzung der Fauna in norddeutschen Seen. Arch. f. Hydrobiol. **12** (1920). — **Thunberg:** Der Gasaustausch einiger niederer Tiere in seiner Abhängigkeit vom Sauerstoffpartiardruck. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **17**, 133 (1905). — **Warburg:** Maßanalytische Bestimmung kleiner Kohlensäuremengen. Hoppe-Seylers Z. **61**, 261 (1909). — **Weinland:** Über Kohlehydratzersetzung bei *Ascaris*, einem tierischen Gärungsprozeß. Z. Biol. **42** (1901). — **Weinland** u. **v. Brand:** Beobachtungen an *Fascicola hepatica*. Z. vergl. Physiol. **4**, 212 (1926). — **Winterstein:** Die Regulierung der Atmung durch das Blut. Pflügers Arch. **138** (1911). — Über die chemische Regulierung der Atmung bei den Cephalopoden. Z. vergl. Physiol. **2**, 315 (1925).

Lebenslauf.

Am 19. April 1907 wurde ich zu Ronsdorf (Kreis Lennep) geboren. Ich bin evangelischer Konfession und preußischer Staatsangehörigkeit. Vom 7. bis 10. Lebensjahr besuchte ich die Volksschule in Barmen, dann die Realschule in Barmen und ab Ostern 1923 die Oberrealschule-Süd in Elberfeld, an der ich Ostern 1926 die Reifeprüfung bestand. Anschließend widmete ich mich dem Studium der Naturwissenschaften, zunächst in Bonn (Sommersemester 1926 bis Sommersemester 1927), dann in Berlin (Wintersemester 1927/28), Bonn (Sommersemester 1928) und Marburg (ab Wintersemester 1928/29). Als Studienfächer wählte ich Biologie, Chemie und Physik. Vorliegende Arbeit übernahm ich Ostern 1929, das Rigorosum bestand ich am 25. Februar 1931. Meine akademischen Lehrer waren in Bonn: v. Antropoff, Beck, Behn, Borgert, Fitting, Jantsch, Konen, Pfeiffer, Reichensperger, Simon, Störring, Wentscher; in Berlin: Dessoir, Hesse, Köhler, Metzner, Stumpf; in Marburg: Alverdes, Claussen, Grüneisen, Schlieper. Ihnen allen möchte ich an dieser Stelle meinen Dank aussprechen.

Kurt Dausend.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig